

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**CRESCIMENTO DE MILHO EM SOLUÇÃO COM ALUMÍNIO
E PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE BAIXO PESO
MOLECULAR**

JEONICE WERLE TECHIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, março de 2009

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**CRESCIMENTO DE MILHO EM SOLUÇÃO COM ALUMÍNIO
E PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE BAIXO PESO
MOLECULAR**

JEONICE WERLE TECHIO

ORIENTADOR: Prof. Ph.D. PEDRO A.V. ESCOSTEGUY
CO-ORIENTADOR: Dra. VANDERLISE GIONGO PETRERE

Passo Fundo, março de 2009

Dedico este trabalho

- Aos meus pais Ivalino e Gerssi.
- Às minhas irmãs Clarice e Jane, ao meu cunhado Sidnei e ao meu sobrinho Matheus.

Agradecimentos

Ao Professor Pedro Alexandre Varella Escosteguy pela orientação, paciência, ensinamentos e amizade durante a realização deste trabalho.

À Pesquisadora Vanderlise Giongo Petrere pela co-orientação.

Ao Professor Roberto Luiz Salet pela oportunidade.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação que, de alguma forma, ajudaram com comentários, críticas, sugestões e amizade, em especial Cheila, Chirlene, Janete, Marília, Raquel e Rosiani.

Aos estagiários e colegas do Laboratório de Química do Solo e Resíduos Sólidos, Alfredo Castamann, Andreia Kraemer, Carla Cioti, Emerson, Enrique Figueroa, Diego Berres, Fabiano Goeller, Felipe Pozzan, Felipe da Silva, Marcos, Matias Três, Ronaldo, Silas Zanela e Silvio Spera, pelo auxílio e amizade.

Aos funcionários e aos estagiários do Laboratório de Análise de Solos Cátia, Cenilda, Maria Helena, Maria Tubias, Suelen, Jonas, Juliano, Marcelo, Rogério, Tobias e Volnei pela colaboração e ensinamentos.

À professora, Maria Tereza Friedrich, à funcionária Mônia Azevedo e à estagiária Lisiane, pela execução das análises cromatográficas.

À funcionária e ao estagiário do Laboratório de Fitopatologia, Cinara, Matheus pela colaboração.

À Coordenação do programa de Pós-Graduação em Agronomia e aos professores do curso pela colaboração e apoio.

À Mari pela eficiência e paciência.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

vi

A todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta,
contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A DEUS

SUMÁRIO

Lista de tabelas	ix
Lista de figuras	x
Lista de apêndices	xii
RESUMO	01
SUMMARY	03
1 INTRODUÇÃO	05
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	08
2.1 Alumínio no solo.....	08
2.2 Alumínio na planta	13
2.2.1 Toxicidade	13
2.2.2 Efeitos citológicos, fisiológicos e bioquímicos	16
2.2.3 Efeitos na absorção de nutrientes	19
2.2.3.1 Fósforo	20
2.2.3.2 Cálcio	21
2.2.3.3 Nitrogênio	24
2.2.4 Acúmulo	25
2.2.5 Absorção e transporte	26
2.3 Mecanismo de tolerância das plantas ao alumínio	27
2.3.1 Mecanismos de destoxificação interna	28
2.3.1.1 Fixação do alumínio na parede celular	28
2.3.1.2 Complexação no simplasma	29
2.3.2 Mecanismos de exclusão	29
2.3.2.1 pH da rizosfera.....	29
2.3.2.2 Capacidade de troca catiônica na raiz.....	30
2.3.2.3 Mucilagem	31
2.3.2.4 Nutrientes.....	32
2.3.2.5 Compostos fenólicos.....	33

2.3.2.6 Ácidos orgânicos.....	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1 Condições gerais do experimento	40
3.2 Solução nutritiva e especiação química	41
3.3 Determinações e análise estatística	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Aspectos visuais das plantas de milho	45
4.2 Massa fresca e seca das plantas.....	48
4.3 Comprimento de raiz seminal, diâmetro de colmo e número de raízes secundárias	57
4.4 Ácidos orgânicos	64
4.5 Teor de alumínio na planta.....	69
5 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
APÊNDICES.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela	páginas
1	Soluções-estoque utilizadas no preparo da solução nutritiva, adaptada de Hoagland e Arnon (1938) 42
2	Massa fresca da raiz seminal (MFRS), massa fresca do sistema radicular (MFSR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz seminal (MSRS), massa seca do sistema radicular (MSSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) de dois híbridos de milho cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média das atividades testadas de alumínio (Passo Fundo-RS, 2009)..... 55
3	Valores de pH da solução nutritiva em função da atividade de alumínio e da semana de cultivo. Média dos híbridos 30F53 e 32R48 e dos dias de avaliação (Passo Fundo-RS, 2009)..... 57
4	Comprimento de raiz seminal (CRS), diâmetro de colmo (DC) e número de raízes secundárias (NRS) de dois híbridos de milho cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). (Passo Fundo-RS, 2009)..... 63
5	Concentrações de ácido málico na raiz adventícia (AMRA) e na raiz fasciculada (AMRF) de dois híbridos de milho cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média das atividades de alumínio. (Passo Fundo-RS, 2009)..... 69
6	Atividade crítica de toxicidade de alumínio em dois híbridos de milho cultivados em solução nutritiva (Passo Fundo-RS, 2009) 72

LISTA DE FIGURAS

Figura	página
1	Parte aérea e sistema radicular de plântulas de milho cultivado em solução nutritiva com e sem alumínio (Al). Atividade de Al de 14,5; 21,75 e 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, na primeira, segunda e terceira semana de cultivo. Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009) 45
2	Sistema radicular de onze plantas de milho cultivado em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009). 46
3	Coloração castanha de raiz de milho, cultivado em solução nutritiva com 1,0 mmol L^{-1} de alumínio. Atividade de 7,5; 11,25 e 15 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$, respectivamente, na primeira, segunda e terceira semana de cultivo. Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009). 48
4	(a) Massa fresca da raiz seminal (MFRS) e (b) massa fresca do sistema radicular (MFSR) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009) 50
5	Massa fresca da parte aérea (MFPA) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009) 51
6	(a) Massa seca da raiz seminal (MSRS) e (b) massa seca do sistema radicular (MSSR) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009) 52
7	Massa seca da parte aérea (MSPA) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al).

	Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	54
8	Comprimento de raiz seminal (CRS) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	59
9	Diâmetro do colmo (DC) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	62
10	Concentração de ácido málico obtido em raiz adventícia (AMRA) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	65
11	Concentração de ácido málico da raiz fasciculada (AMRF) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	67
12	Teor de alumínio no sistema radicular de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).....	70

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice	página
1	Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios obtidos da análise de variância da massa fresca de raiz seminal (MFRS), da massa fresca do sistema radicular (MFSR) e massa fresca da parte aérea (MFPA) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio..... 89
2	Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios obtidos da análise de variância da massa seca de raiz seminal (MSRS), da massa seca do sistema radicular (MSSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio..... 89
3	Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise da variância do comprimento de raiz seminal (CRS), diâmetro de colmo (DC) e número de raízes secundárias (NRS) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio 90
4	Cromatograma com os tempos de retenção do ácido málico, láctico e cítrico, determinados na raiz adventícia e fasciculada e na segunda folha dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio 90
5	Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise de variância da concentração de ácido málico de raiz adventícia (AMRA) e ácido málico de raiz fasciculada (AMRF) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio 91

6	Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise de variância do teor de Al dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio.....	91
---	--	----

CRESCIMENTO DE MILHO EM SOLUÇÃO COM ALUMÍNIO E PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE BAIXO PESO MOLECULAR

Jeonice Werle Techio¹; Pedro Alexandre Varella Escosteguy²;
Vanderlise Giongo Petreire³

RESUMO – A utilização de híbridos tolerantes ao alumínio (Al) é uma das estratégias adotadas para a produção de milho em solos ácidos. Para utilizar esta estratégia, é importante conhecer a reação de híbridos ao Al e os mecanismos de tolerância a esse elemento. O objetivo do trabalho foi o de avaliar o efeito do Al no crescimento e na produção de ácidos orgânicos, de baixo peso molecular, de dois híbridos de milho. As atividades de Al testadas foram: 0,0; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo este fator combinado com os híbridos de milho Pioneer 30F53 (precoce) e Pioneer 32R48 (superprecoce), em esquema bifatorial. O experimento foi conduzido em estufa plástica, durante três semanas. As plantas foram cultivadas em vasos contendo solução nutritiva, como meio de cultivo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições. Foi avaliado o comprimento da raiz seminal, da massa fresca e seca da raiz seminal, do sistema radicular e da parte aérea, o diâmetro de colmo e o número de raízes secundárias, a concentração dos ácidos málico, lático e cítrico na solução nutritiva, nas raízes adventícias e fasciculadas e na

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia, PPG-Agro, Área de Concentração Produção Vegetal, Universidade de Passo Fundo, UPF.

² Orientador, Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Professor PPG-Agro, UPF.

³ Co-orientador, Engenheira Agrônoma, Dra., Pesquisadora da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE.

segunda folha, além do teor de Al do sistema radicular e da parte aérea das plantas e a atividade tóxica desse cátion que suprime 10 % dos atributos de crescimento avaliados. A interação dos fatores testados não influenciou as variáveis avaliadas. O acréscimo de Al na solução nutritiva reduziu o comprimento da raiz seminal, o diâmetro de colmo, a massa fresca e seca da raiz seminal, do sistema radicular e da parte aérea, mas aumentou a concentração do ácido málico na raiz fascicular no híbrido 32R48. Esses efeitos foram mais acentuados com $29 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ e menos com a atividade de $12 \mu\text{mol Al L}^{-1}$. Os ácidos orgânicos não foram detectados na solução de cultivo, sendo que os ácidos, cítrico e láctico não foram detectados na raiz e na parte aérea. O híbrido 32R48 foi mais tolerante ao Al que o híbrido 30F53. Essa maior tolerância está relacionada ao menor teor de Al na biomassa e a maior concentração de ácido málico das raízes fasciculadas, a qual aumenta com a atividade do Al na solução.

PALAVRAS-CHAVE: ácido málico, raiz de milho, solução nutritiva, toxicidade de alumínio, *Zea mays*.

GROWTH OF CORN IN SOLUTION WITH ALUMINUM AND PRODUCTION LOW MOLECULAR WEIGHT ORGANIC ACIDS

SUMMARY - The utilization of aluminum (Al) tolerant hybrids is a strategies employed for corn production on acid soils. To apply this strategy, the knowledge of hybrid reaction to Al as well as the mechanisms related to the Al tolerance is important. The objective of this study was to evaluate the effect of Al on corn growth and on low molecular weight organic acids production. The activities of Al tested were 0.0, 5.81, 9.9, 14, 21, and 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The effect of this factor was combined with the effect of corn hybrids (Pioneer 30F53 and 32R48, earlier and super earlier cycle, respectively), on a factorial model. The experiment was conducted in plastic greenhouse for a period of three weeks. Plants were growing in pots containing nutrient solution as growth medium. The experimental design was a randomized block design with four replications. Seminal root length, fresh and dry weight, root and shoot dry weight, stem diameter, and number of secondary roots, concentration of malic, lactic, and citric acids in the nutrient solution, in the adventitious and fasciculate roots, and in the second leave, besides Al in the roots and shoots of plants and the toxic activity of this cation that suppresses 10% of the growth attributes were evaluated. The interaction of the factors tested did not influence the evaluated variables. Increase of Al in the nutrient solution decreased the seminal root length, the stem diameter, the fresh and dry weights of seminal root and of root and shoot, but increased the concentration of malic acid on fascicular roots of hybrid 32R48. These effects were more pronounced with 29 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ and less with 12 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$. Organic acids were not detected in the nutrient solution. Citric and lactic acids were not detected in roots and

shoots. The hybrid 32R48 was more tolerant to Al than the hybrid 30F53. This difference is related to the lower Al content in the biomass and the largest concentration of malic acid in fasciculate roots of the hybrid 32R48, which increase in solutions with higher activity of Al.

KEY WORDS: malic acid, corn root, nutrient solution, aluminum toxicity, *Zea mays*.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*, L.) é uma planta C_4 de origem tropical, sendo uma das mais importantes culturas para a alimentação humana e animal. Na América do Sul e América Central, geralmente, essa espécie é cultivada em solos ácidos (FAGERIA et al., 1988).

A acidez é uma limitação importante da fertilidade de solos tropicais e subtropicais. Nesses solos, quando a remoção de cátions básicos, principalmente por lixiviação, é maior que a taxa de liberação dos minerais e dos compostos orgânicos, o pH do solo diminui. A decomposição da matéria orgânica do solo por microorganismos resulta na liberação de hidrogênio (H^+), ocasionando, também, a progressiva redução de pH.

As reações de hidrólise que ocorrem na solução do solo, a ação do ser humano e a própria absorção de nutrientes pelas plantas são, também, fatores que contribuem para a acidificação do solo. Inicialmente, ocorre a solubilização da rocha, porque a água da chuva que entra em contato com a mesma é ácida, devido à dissolução e reação do gás carbônico (CO_2) da atmosfera na água.

Em pH baixo, o H^+ atua sobre os minerais, liberando íons, como o alumínio (Al^{3+}), que podem ser retidos nas cargas negativas das partículas do solo. Essa forma iônica do Al está em equilíbrio químico com o Al da solução do solo. Assim, a quantidade de Al^{3+} em solução aumenta com a acidez do solo. Os fertilizantes que são adicionados ao solo podem ocasionar redução do pH do solo. Este é o caso, por exemplo, de fertilizantes nitrogenados, quando utilizados com frequência em solo com baixo poder tampão. Além disso, quando há absorção de um cátion (NH_4 , no caso) pela planta, há exsudação de

íons H^+ pelas raízes das plantas, para manter a eletroneutralidade (BOHNEN et al., 2005).

O Al tóxico às células, inibe o crescimento do sistema radicular de plantas, prejudicando a absorção de água e nutrientes e, por consequência, reduzindo o rendimento e a qualidade das culturas agrícolas (TAYLOR, 1988). Contudo, a toxicidade do Al^{3+} e outros problemas causados pela acidez do solo podem ser contornados com o uso de técnicas agronômicas, como a calagem (CONCEIÇÃO, 2006).

A utilização de corretivos de acidez do solo nem sempre é viável sob o ponto de vista prático e econômico, principalmente, devido aos custos crescentes dos processos de obtenção, transporte e aplicação desse insumo. Além disso, com o advento do sistema de plantio direto a calagem da camada de 0 a 20 cm é restrita à aplicação na fase de implantação desse sistema, sendo que as aplicações posteriores são realizadas na linha ou na superfície do solo, determinando baixa eficiência no controle da acidez subsuperficial, nas camadas do solo situadas em profundidades maiores que 10 cm (SALET, 1998; PETRERE, 2002)

Um dos efeitos da toxicidade do Al é a rápida inibição no crescimento das raízes, sendo que isso ocorre em poucas horas (0,5–2 h) após a exposição ao metal. Este efeito é causado por diferentes mecanismos, tais como, inclusão da interação do Al dentro da parede celular, da membrana plasmática ou do simplasto radicular (KOCHIAN, 1995).

A tolerância das plantas ou toxicidade do Al pode estar relacionada à capacidade de algumas espécies em favorecer a exclusão do Al das raízes e/ou ter maior tolerância intracelular devido ao seqüestro do Al no simplasto das plantas. Embora recentes evidências

tenham sido relatadas sobre o mecanismo de resistência do Al envolvendo destoxificação interna e o seqüestro desse cátion, a resistência das plantas pode ser devido à quelatização e à exclusão extracelular do Al, por liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular pela raiz. O aumento na exsudação radicular de ácido cítrico, oxálico e málico têm sido correlacionados, com diferentes resistências ao Al em várias espécies de plantas Liliopsidas e Magnoliopsidas (PIÑEROS et al., 2005).

A busca por plantas adaptadas aos solos ácidos tem sido justificada pela ampla variabilidade inter e intra-específica existente para a maioria dos estresses nutricionais que interferem nos processos de absorção, transporte e utilização de nutrientes pelas plantas (CANTÃO, 2007).

Neste sentido, a estratégia do melhoramento de plantas em culturas adaptadas a solos contendo níveis tóxicos de Al vem tendo elevada importância. Desta forma, um melhor entendimento dos mecanismos de tolerância ao Al tóxico vem sendo enfatizado pela pesquisa nos últimos anos. Este conhecimento possibilita compreender estes mecanismos e utilizar estas informações no crescimento de plantas tolerantes ao Al, viabilizando os cultivos agrícolas em solos ácidos.

Passado várias décadas desde as primeiras publicações sobre o Al, a compreensão dos mecanismos causais da toxicidade e da tolerância ao Al em plantas ainda é bastante limitada. Atualmente, encontram-se poucas publicações sobre o assunto, um dos motivos pelo qual se justifica a realização do presente trabalho.

Esta pesquisa teve por objetivo geral contribuir com subsídios para o esclarecimento de mecanismos de tolerância de

plantas de milho (*Zea mays* L.) à toxicidade do Al. O objetivo específico deste trabalho foi avaliar o efeito da toxicidade do Al no crescimento do sistema radicular e da parte aérea e na produção dos ácidos cítrico, málico e láctico, dos híbridos de milho Pioneer 30F53 e 32R48.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alumínio no solo

O alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante, em massa, na crosta terrestre, antecedido pelo oxigênio e o silício, compreendendo 7,1 % da crosta terrestre, sendo considerado o metal mais leve (KOCHIAN, 1995; MACHADO, 1997; MA et al., 2001; PEDROTTI et al., 2003).

Devido à alta ocorrência de precipitação pluviométrica e ao menor teor de minerais primários e secundários, responsáveis pela reposição de cátions de reação básica, normalmente os solos tropicais e subtropicais são ácidos (MELO et al., 1983; CUSTÓDIO et al., 2002; FREITAS et al., 2006). Um solo é considerado ácido, quando a maior proporção dos cátions trocáveis é constituída por hidrogênio e alumínio (MALAVOLTA, 2006).

A maior parte do Al do solo é encontrada em partículas de argila, na forma de aluminossilicatos (GESTEL e HOOGERWERF, 2001). Este cátion faz parte de minerais primários, como micas; e feldspatos de minerais secundários aluminossilicatados, como a caulinita, a haloisita e a imogolita; e de hidróxidos de alumínio, como a gibbsita (CAMBRI, 2004). As formas de Al, em diferentes minerais

do solo, e provocam fitotoxicidade em solos ácidos (PEDROTTI et al., 2003).

A toxicidade do Al é, freqüentemente, o principal fator limitante à produção agrícola em muitos solos ácidos de zonas tropicais e subtropicais (TAYLOR, 1988; RENGEL, 1990; KOCHIAN, 1995; STAB e HORST, 1995; JANSEN et al., 2002; CHAFFAI et al., 2005). Em solos com valor de pH < 5, o Al pode ser encontrado na forma tóxica na solução do solo (ÁLVAREZ et al., 2005; PIÑEROS et al., 2005), sendo esse, o valor de pH dos solos típicos destas regiões climáticas (PIÑEROS et al., 2005). Embora, também, nesta faixa de pH, as deficiências de cálcio (Ca), magnésio (Mg) ou fósforo (P) possam ser responsáveis pelo menor crescimento das plantas (ADAMS e HATHCOCK, 1984; SOBRAL e GUIMARÃES, 1992; WENZL et al., 2003).

Outro fator que afeta o crescimento das plantas é a atividade de H^+ na solução do solo, a qual é alta em solos ácidos. Esta situação é refletida pelo baixo valor do pH (usualmente entre 4,5 e 5,5) e pela alta porcentagem de saturação de Al, no complexo de troca, o que é prejudicial para o crescimento do sistema radicular (ECHART e MOLINA, 2001).

A concentração total de Al na solução do solo situa-se, normalmente, na faixa de 0,01 a 0,35 mmol L⁻¹ (MACHADO, 1997). Segundo Andrade Junior e Castro (2005), a concentração de 0,166 mmol Al L⁻¹ em solução hidropônica permite diferenciar genótipos de sorgo em tolerante e sensível a toxicidade desse metal. Para Almeida et al. (2000), o efeito inibidor do Al no alongamento da raiz, em genótipos de *Panicum maximum*, foi mais pronunciado na concentração de 0,88 mmol L⁻¹ em solução nutritiva. Já Peixoto et al.

(2007), observaram injúrias de toxicidade do Al na concentração de 0,185 mmol Al L⁻¹ em solução, em plantas de duas cultivares de sorgo. No entanto, Mistro et al. (2001) observaram que o cultivar de trigo controle BH-1146 (tolerante) não apresentou crescimento das raízes após o tratamento com 0,37 mmol Al L⁻¹. Enquanto o cultivar “Anahuac” não mostrou crescimento radicular (sensível) após o tratamento de 0,07 mmol Al L⁻¹ em solução hidropônica.

A avaliação das formas trocáveis de Al no solo pode explicar parcialmente o efeito desse cátion sobre o crescimento das plantas cultivadas. Muitos trabalhos têm relacionado esse efeito à espécie de Al predominante na solução do solo ou em soluções hidropônicas (CAMBRI, 2004). Para tanto, utiliza-se a técnica da especiação de íons. Essa técnica possibilita a determinação da atividade das diferentes espécies de um elemento e que constituem a concentração total deste na solução analisada (SALET, 1998). A especiação química descreve a abundância, a distribuição numérica ou a reatividade das espécies químicas de moléculas ou íons e a transformação dessas em outras espécies (COMETTI et al., 2006). Ela é importante porque ajuda a compreender a disponibilidade e a mobilidade dos elementos químicos em soluções (ZAMBROSI et al., 2007), permitindo uma avaliação mais detalhada da eficiência dos componentes e do mecanismo responsável pela neutralização e/ou complexação dos elementos químicos (NOLLA e ANGHINONI, 2006). A formação de complexos de um determinado íon, com outros de valência oposta (par iônico), influencia a disponibilidade desses às plantas. Dessa forma, no presente trabalho, a especiação química do Al é de importância para a avaliação dos efeitos estudados, pois este

cátion é mais tóxico quando presente na solução na forma da espécie Al^{3+} .

O Al, por possuir carga trivalente, pequeno raio iônico (0,057 nm) e eletronegatividade relativamente alta, tende a se ligar com um ânion na solução do solo (CAMBRI, 2004). Além de estar na forma livre, o Al na solução do solo pode estar complexado, com hidróxidos (AlOH^{2+} ; Al(OH)_2^+ ; Al(OH)_3^0 e Al(OH)_4^-), sulfato (AlSO_4^+), fluoreto (AlF^{2+}), fosfato ($\text{AlH}_2\text{PO}_4^{2+}$), ligantes orgânicos (Al-orgânico), ou estar na forma de polímeros (polinúcleos de Al, como Al_{13}). O somatório do Al, nessas formas químicas, representa a concentração total do Al na solução do solo (CAMBRI, 2004), sendo essa determinada na análise do Al trocável do solo, em laboratório de rotina que, portanto, não discrimina o teor de Al^{3+} .

Em valor de $\text{pH} < 4,7$, a atividade do Al^{3+} é trinta vezes mais tóxica que a forma complexada com fluoreto (AlF^{2+}), e vinte vezes mais tóxica que quando complexado com sulfato (AlSO_4^+). Por outro lado, é considerado pouco tóxico ou não tóxico o Al complexado com ligantes orgânicos. Entre os valores de $\text{pH} 4,7$ a $6,5$, as espécies predominantes de Al são Al(OH) e Al(OH)_2 e entre os valores de $\text{pH} 6,5$ a $8,0$, esse cátion predomina na forma de espécie primária Al(OH)_3 (PAVAN et al., 1982; BLAMEY et al., 1983; MIYASAWA et al., 1992).

O aumento no teor de matéria orgânica no solo tende a amenizar os efeitos tóxicos dos íons de Al (MACHADO, 1997). Há dois grupos de compostos orgânicos, que são importantes em complexar esse cátion. Os materiais húmicos complexos, de alto peso molecular (ácidos húmicos e fúlvicos) e o representado por compostos bioquímicos de baixo peso molecular, como os ácidos orgânicos

(ácido málico, ácido cítrico, ácido oxálico...), fenóis, ácidos fenólicos e sideróforos. Ambos os grupos podem formar complexos de estabilidade variada com as formas de Al monomérico. O Al assim complexado não é tóxico às plantas. As espécies amorfas de Al complexado com humatos e fulvatos, devido ao seu grande tamanho, não podem permear os poros da parede celular nem, portanto, ser absorvidos como tais (ROSSIELLO e JACOB NETTO, 2006).

Os resultados obtidos por Raposeiras et al. (2005), cultivando plantas de milho, em solução nutritiva completa, com atividade de Al estimada em $39 \mu\text{mol L}^{-1}$, sugerem que os compostos fenólicos possam ter participação nos mecanismos de tolerância ao Al. Os autores observaram que a linhagem tolerante Cateto 237, sob toxicidade de Al, foi capaz de manter as concentrações de compostos fenólicos solúveis totais, apresentando aumento nas concentrações dos ácidos *p*-cumárico, ferúlico e 5-5 diferúlico da parede celular.

Conforme Galvani (1981), os teores de ácidos orgânicos totais de duas cultivares de sorgo diferem quando elas são cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Al. Esse autor relata que os teores de ácidos orgânicos totais, na raiz, foram, em média, 55 % mais elevados na cultivar tolerante. Galvani (1981) observou que os teores de ácidos orgânicos, nas duas cultivares, aumentaram com o aumento das concentrações de Al na solução nutritiva.

Ainda segundo Galvani (1981), a composição desses ácidos orgânicos foi influenciada pelo Al. Embora todos os ácidos orgânicos detectados tenham mostrado tendência de se acumularem sob concentrações mais elevadas de Al, as duas cultivares somente diferiram entre si quanto aos teores dos ácidos transaconítico e málico.

Esses dois ácidos foram os mais abundantes, somando 75 e 88 %, respectivamente, do total obtido na cultivar tolerante, e 53 e 73 %, respectivamente, na cultivar sensível.

2.2 Alumínio na planta

2.2.1 Toxicidade

Os efeitos típicos da fitotoxicidade de Al ocorrem no sistema radicular, que é a parte das plantas mais afetada pelo excesso desse íon, sendo que em poucas horas (0,5–2 h) ou dias a toxicidade do Al é manifestada (KOCHIAN, 1995; VITORELLO et al., 2005; ROSSIELLO e JACOB NETTO, 2006; TAHARA et al., 2008). Por essa razão, a avaliação do crescimento radicular tem sido amplamente utilizada como indicadora de tolerância ao íon Al, principalmente em experimentos de seleção de genótipos em solução nutritiva.

O principal local da ação tóxica do Al localiza-se no ápice da raiz (CONCEIÇÃO, 2006; WANG et al., 2006; HARTWIG, et al., 2007), nas paredes celulares da epiderme (PEIXOTO et al., 2007), na coifa e na mucilagem radicular (GUIMARÃES et al., 2006). Assim, a parte mais sensível da raiz é a região meristemática, o que compromete o alongamento celular, sendo este o primeiro local onde a toxicidade do Al induz injúrias na planta (CHAFFAI et al., 2005), devido à redução da divisão celular (KOCHIAN, 1995; ECHART e MOLINA, 2001). Isto resulta, conseqüentemente, na diminuição do alongamento celular (RENGEL, 1990; PETRERE, 2002; FORTUNATO e NICOLOSO, 2004), deixando as raízes mais grossas, curtas, de coloração castanha, quebradiça, com aparência de coralóides (FURLANI, 1989; SOBRAL e GUIMARÃES, 1992; FORTUNATO e NICOLOSO, 2004), lembrando formações de corais,

motivo pelo qual recebem este nome (MALAVOLTA, 2006) e, ocasionalmente, com manchas necróticas (VELOSO, et al., 2000). As raízes em contato com níveis tóxicos de Al apresentam poucas ramificações (SAWAZAKI e FURLANI, 1987), o que se deve à inibição do crescimento de raízes secundárias (FURLANI, 1989).

A inibição do crescimento da raiz é o sintoma mais visível da toxicidade por Al em plantas. A redução da parte aérea ocorre em um momento posterior e parece ser uma consequência dos danos que ocorrem na raiz (CANTÃO, 2007).

Os sintomas de toxicidade de Al na parte aérea das plantas, muitas vezes, não são claramente diagnosticáveis. Em algumas espécies, os sintomas foliares são semelhantes aos de deficiência de P, ou seja, há um atrofiamento generalizado, as folhas tornam-se pequenas, e há a ocorrência de um avermelhamento ou coloração púrpura nos caules, nas folhas e nas nervuras. Em outras espécies, o conjunto de sintomas de toxicidade de Al confunde-se com os de deficiência de Ca, constando de enrolamento ou crestamento de folhas novas e morte das pontas de crescimento ou dos pecíolos. Pode também ocorrer clorose internervural típica de deficiência de Fe. Algumas espécies de plantas, cultivadas em solução nutritiva contendo Al, podem apresentar murchamento de folhas, típico de deficiência hídrica (SAWAZAKI e FURLANI, 1987; SOBRAL e GUIMARÃES, 1992; MENOSSO et al., 2000; FERREIRA et al., 2006; WANG et al., 2006; HARTWIG 2007).

Os efeitos do Al, em cultivares de uma espécie vegetal, dependem da idade da planta, do tempo de exposição e da concentração de Al adicionado ao meio de crescimento, sendo ainda, modificados por outros fatores, como composição, força iônica, pH e

temperatura da solução (VASCONCELOS et al., 2002). Um dos melhores atributos vegetais, para avaliar a tolerância ao Al, tem sido o crescimento da raiz seminal de plântulas cultivadas em solução nutritiva (PATERNIANI e FURLANI, 2002).

Segundo Pinto (2002), o crescimento da raiz seminal de milho foi reduzido em 80 %, em relação ao tratamento sem Al, quando essa espécie foi cultivada em solução nutritiva com $3,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atividade de Al, que correspondeu à concentração de $0,010 \text{ mmol Al L}^{-1}$. Para Mazzocato et al. (2002), a melhor concentração de Al para identificar a tolerância de milho a esse cátion em solução nutritiva, contendo como único nutriente o Ca na concentração de 1 mmol L^{-1} , foi de 162 mmol L^{-1} , usando o comprimento da raiz seminal para avaliar esse efeito.

No genótipo BR007B de sorgo, a redução do crescimento da raiz seminal foi de 84,95 % quando cultivado em solução nutritiva contendo $0,166 \text{ mmol Al L}^{-1}$ (ANDRADE JUNIOR et al., 2005). Por outro lado, o crescimento de raiz seminal do cultivar BH-1146 de trigo não foi influenciado com o tratamento de $0,37 \text{ mmol Al L}^{-1}$, em solução nutritiva, enquanto que o crescimento radicular da cultivar “Anahuac” foi interrompido com o tratamento de $0,07 \text{ mmol Al L}^{-1}$ (MISTRO et al., 2001). Isso também foi observado com o cultivar Maravilha de arroz, em solução nutritiva com $0,50 \text{ mmol Al L}^{-1}$, que reduziu 26,2 % o comprimento de raízes, em relação a cultivar Fernandes (JUSTINO et al., 2006). Estes resultados indicam que a concentração tóxica de Al depende, entre muitos fatores já citados, da variabilidade genética do vegetal.

2.2.2 Efeitos citológicos, fisiológicos e bioquímicos

Em nível celular, o Al pode interferir em processos fisiológicos, sendo tóxico às plantas (ZHAO et al., 1987). Estudos indicam que o primeiro alvo do Al na célula é a membrana plasmática, ou plasmalema. As membranas vegetais podem ser visualizadas como arranjos semifluídos de proteínas e fosfolipídios. Dependendo das condições do meio (pH e outros fatores) o Al pode se ligar tanto às proteínas como aos fosfolipídios (ZHAO et al., 1987).

O Al diminui a fluidez e modifica a permeabilidade da membrana, ou seja, aumenta a permeabilidade para a uréia; diminui os lipídios permanentes da membrana e a permeabilidade à água (ZHAO et al., 1987; STAB e HORST, 1995; RAMOS et al., 2007). Estes mecanismos são ligados à membrana fosfolipídica, reduzindo, freqüentemente, os ácidos graxos da membrana e ocorrendo um superior condensamento da densidade dos fosfolipídios (STAB e HORST, 1995). O Al pode reagir com a porção protéica da membrana, causando a mudança na configuração das proteínas e na interação proteína-lipídio e modificando a mobilidade da dupla camada de lipídios. Este íon muda a ligação do plasmalema com a parede celular, causando na membrana a plasmólise e, também, pode solidificar regiões do protoplasma (ZHAO et al., 1987).

Os íons Al e Ca ocasionam rigidez aos lipídios da membrana, possivelmente, por ligações ao grupamento fosfolipídio, negativamente carregado. Desde que a força de ligação do cátion aos fosfolipídios parece ser proporcional à carga do íon, o Al^{3+} liga-se à membrana mais fortemente que o Ca^{2+} . Esse efeito ocasiona alterações na permeabilidade da membrana e pode promover o efluxo de íons, principalmente de K^+ (ZHAO et al., 1987).

O Al, também, inibe a atividade da enzima Mg^{2+} ATPase, estimulada por K^+ . A inibição das atividades dessa enzima pode ser explicada de várias maneiras: (1) os íons de Al ligam-se aos lipídios da membrana (em particular os que cercam a proteína enzimática) e alteram a enzima, com a modificação nas interações lipídios-proteínas; (2) sem a ocorrência da mediação de lipídios, os íons de Al podem atuar, diretamente, na proteína enzimática, ou nas proteínas envolvidas na estimulação da enzima, conforme ocorre com a atividade da calmodulina- Ca^{2+} (RENGEL, 1990).

O Al dentro da célula provoca alterações nas propriedades da parede celular e na plasmalema; nas células da coifa, que se tornam vacuoladas, com interrupção da função do aparelho de Golgi e do desenvolvimento de plastídios que sofrem alterações na estrutura nuclear e perda de citoplasma, e, finalmente, a desintegração (FURLANI, 1989).

As células epidérmicas, endodérmicas e corticais afetadas pelo Al rapidamente se autolizam, tornando-se inchadas e desorganizadas. As regiões meristemáticas das raízes primárias e laterais desorganizam-se, a ponto dificultar a distinção entre coifa e elementos vasculares. Os pontos de erupção dos pêlos absorventes na base dos mesmos falham se cicatrizarem naturalmente (FOY, 1988).

As células de raízes de plantas estressadas por Al sofrem alterações citológicas, que ocasionam paralisação do crescimento. O desaparecimento de estruturas mitóticas nas pontas de raízes, sem, todavia, cessar a mitose, foi associado com a desintegração e expulsão do nucléolo do núcleo e com a inibição do crescimento (SOUZA, 2001).

Acúmulo significativo de Al tem sido detectado na epiderme de raízes, em regiões de ativa divisão celular (extremidade de raízes). No interior das células, o Al acumula-se no núcleo, provavelmente, ligado ao DNA via fosfatos. A interação Al-DNA aumenta a rigidez da dupla hélice e inibe a atividade de replicação, sem, entretanto, afetar a fidelidade desse processo. Portanto, o Al parece não ter efeito mutagênico (MACHADO, 1997).

O Al pode causar severas anormalidades citológicas em plantas, redundando em menor crescimento radicular. Já foi observado que células corticais apresentaram-se grandes, anormais e divididas irregularmente (FERREIRA et al., 2006). Na região meristemática da ponta da raiz, observa-se um número anormalmente alto de células binucleadas ou polinucleadas, o que indica que o processo da divisão celular é paralisado (MALAVOLTA, 2006).

O Al diminui a concentração total de clorofila, diminui a taxa de fotossíntese e reduz a abertura dos estômatos, mas o declínio na taxa de transpiração é mais severo (VITORELLO et al., 2005; WANG et al., 2006).

Em condições sem estresse, as células produzem espécies reativas de oxigênio, com a redução da forma molecular desse elemento, mas, em condições de estresse ambiental (concentrações tóxicas de Al), esta produção é aumentada. As células vegetais possuem um sistema defensivo, constituído por várias enzimas, como a catalase, o superóxido dismutase, a glutathiona peroxidase e a redutase. Estas enzimas, eficientemente, reduzem espécies reativas de oxigênio, em circunstâncias normais, mas se a completa redução não ocorrer, o resultado pode ser um estado de estresse oxidativo, levando

à oxidação de biomoléculas, como lipídios, proteínas e DNA (BOSCOLO et al., 2003).

Em suma, o Al age diretamente na divisão e expansão celular; enrijece as paredes das células, com a deposição de pectina e hemicelulose; interfere na replicação de DNA durante a interfase, com o enrijecimento da dupla hélice; inibe a respiração radicular; interfere na atividade de fosfatases ácidas, na atividade de ATPases, na fotossíntese e no teor de aminoácidos; interfere nas enzimas que governam a fosforilação do açúcar e a deposição de polissacarídeos nas paredes da célula; interfere no influxo, transporte e uso de elementos essenciais, como Ca, Mg, K, P, Fe e água, além de fixar o P em formas menos solúveis no solo. Atua, indiretamente, no processo metabólico associado com a divisão celular, inibindo o processo de crescimento (FURLANI, 1989; SOUZA, 2001; SCHLINDWEIN et al., 2003; FERREIRA et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2006). Esses efeitos são visualizados pelo menor crescimento e engrossamento do sistema radicular, resultando em menor volume de solo explorado pelas raízes e prejudicando a absorção de água e nutrientes.

2.2.3 Efeitos na absorção de nutrientes

Já são bem conhecidos os efeitos negativos do Al sobre a absorção e o metabolismo de nutrientes nas plantas. Embora a maior parte da literatura mencione os efeitos do Al no P, Ca, Mg e N (RENGEL, 1990; SANTOS et al., 1999; FORTUNATO e NICOLOSO, 2004), há evidências que outros nutrientes, como o Fe e o Mo, também sejam afetados pelo estresse causado por esse íon (FOY e BROWN, 1964; WANG et al., 2006). Estes efeitos, aparentemente, ocorrem porque o Al induz a formação de calose nos

canais plasmodesmáticos, inibindo fisicamente o transporte simplástico desses nutrientes entre as células (ECHART e CAVALI-MOLINA, 2001).

Os efeitos do Al na nutrição das plantas variam com a espécie vegetal, a cultivar, as condições experimentais (pH, temperatura, concentrações de cátions e ânions na solução) e as concentrações de Al (WANG et al., 2006). Mesmo que as deficiências minerais induzidas pelo Al não expliquem os efeitos rápidos que são observados em plantas, os exames acurados da influência do Al no metabolismo mineral têm revelado que tais efeitos podem originar de alterações no metabolismo iônico, sem que os mesmos estejam ligados à indução de deficiência mineral (FORTUNATO e NICOLOSO, 2004).

2.2.3.1 Fósforo

Os sintomas visuais da toxicidade de Al na parte aérea são semelhantes aos manifestados em condições de deficiência de fósforo. Por outro lado, o suprimento de P ao meio de cultivo das plantas ocasiona um efeito protetivo contra a injúria do Al. Assim, muitos pesquisadores especulam que os efeitos da fitotoxicidade de Al podem ser atribuídos diretamente à deficiência de P induzida por esse cátion (FOY, 1988).

O Al prejudica a absorção de P de duas formas: reduz o crescimento do sistema radicular e liga-se a esse elemento, tanto na superfície, quanto no interior das células, formando compostos de baixa solubilidade. Desta forma, ocorre a redução na absorção do P, bem como a precipitação do nutriente nas raízes, restringindo a sua translocação para a parte aérea (CANTÃO, 2007). Em planta

estressada por Al, ocorre uma reação de contínua adsorção-precipitação que reduz a entrada de P nas raízes, ou no espaço livre aparente, e o subsequente transporte para a parte aérea, impedindo-o de participar de processos de transferência de energia (MACHADO, 1997).

Embora os efeitos diretos do Al no metabolismo não estejam bem esclarecidos, alguns resultados sugerem que esse cátion pode alterar a hidrólise de ATP (via inibição na ATPase), e ou a esterificação de fosfatos e ou a hidrólise de mono ésteres do ácido fosfórico. Esses efeitos podem ocasionar um distúrbio significativo nos processos enzimáticos de raízes expostas ao Al (FOY, 1988).

2.2.3.2 Cálcio

A similaridade existente entre os sintomas da toxicidade de Al com os de deficiência de Ca, em raízes de plantas estressadas por Al, indica que os processos de absorção e transporte de Ca são fatores importantes na toxicidade de Al.

O Ca é um elemento imóvel nas plantas, não sendo transportado pelo floema (RAIJ, 1991), pois a maioria desse nutriente na planta encontra-se em formas insolúveis em água. Esse nutriente é essencial, para manter a integridade estrutural das membranas e da parede celular (JOHANSEN et al., 1968; POOVAIAH, 1985; MALAVOLTA, 2006), sendo importante na divisão e no alongamento celular (SULAIMAN et al., 2004). Quando ligado com a pectina da lamela média, permite a extensão da parede celular, como resultado do aumento da plasticidade (SULAIMAN et al., 2004). Assim, o Ca têm funções importantes na planta, como a manutenção da estrutura da parede celular (BENINNI et al., 2003; POOVAIAH, 1985;

MALAVOLTA, 2006) e na integridade estrutural das membranas (JOHANSEN et al., 1968; POOVAIAH, 1985; MALAVOLTA, 2006), apresentando um efeito cimentante que promove a adesão célula a célula, durante a citocinese (POOVAIAH, 1985; FÁVARO e IDA, 1998). Este elemento tem papel na regulação da mitose, da sinalização celular, do gravitropismo, dos crescimentos polares e das correntes citoplasmáticas (MATTIELLO et al., 2008). Sabe-se, também, que o Ca desempenha importante papel nas células guardas (EVANS et al., 2001).

Por outro lado, o Al diminui o influxo de Ca na planta, sendo que o papel da interação do transporte Al^{3+}/Ca^{2+} , no mecanismo de tolerância ao Al, tem recebido atenção da pesquisa. O Al pode bloquear os canais de Ca na membrana plasmática, ligando-se às proteínas carregadoras e interrompendo processos enzimáticos (HUANG et al., 1995; ECHART e MOLINA, 2001). Estes bloqueios devem-se a ligação mais forte entre o Al e as proteínas da membrana plasmática, em relação à força de ligação do Ca, o que provoca mudanças na conformação protéica da membrana (HUANG et al., 1995). Embora essa maior ligação do Al com as proteínas, a maior concentração de Ca em solução reduz o efeito da toxicidade de Al em plantas (PETRERE, 2002).

A concentração de Ca no citosol é baixa, comparada com as organelas, devido à ação de ATPases transportadoras, localizadas no plasmalema, que excluem o Ca do citosol (POOVAIAH, 1985). A concentração de Ca no citosol é restaurada e mantida em baixos níveis devido ao transporte para as organelas intracelulares, principalmente para os vacúolos (ASKERLUND, 1997). A atividade das ATPases é controlada pelas calmodulinas (CaM), proteínas reguladoras, que se

combinam com o Ca^{2+} e regulam vários processos bioquímicos na planta. Sabe-se que o Al pode mudar a estrutura e o funcionamento dessa proteína, prejudicando os processos que ela atua (POOVAIAH, 1985; MALAVOLTA, 2006).

A proteína CaM é o principal alvo do Al. Ela existe na forma de um polipeptídeo, com quatro sítios de ligação de Ca, podendo agir como segundo mensageiro de um sistema regulatório de vários processos metabólicos importantes (FURLANI, 1989). Poovaiiah (1985) formulou hipóteses indicando o termo complexo entre calmodulina e Al, e isto pode ser o principal mecanismo da toxicidade do Al.

O Al tem alta afinidade pelas CaM (cerca de 2,5 a 10 vezes maior que o Ca) e induz uma conformação diferente que inativa esta proteína e previne os seus efeitos estimulantes nas atividades enzimáticas dependentes. Assim sendo, uma das hipóteses plausíveis dos efeitos fitotóxicos do Al estaria relacionada com a inibição na atividade dessa proteína. Essa hipótese é fundamentada pelas seguintes observações: (1) a toxicidade de Al induz a deficiência de Ca; (2) a absorção de Al pelas raízes parece ocorrer, de forma trocável, nos pontos de ligação do Ca; (3) altas concentrações de Ca podem, parcialmente, aliviar a toxicidade de Al, sendo os efeitos independentes dos ocasionados por aumentos na força iônica; e (4) a calmodulina concentra-se em pontas de raízes onde, também, ocorre a toxicidade de Al, com a aparente inibição da mitose (POOVAIAH, 1985).

2.2.3.3 Nitrogênio

O estresse de Al afeta a absorção e a assimilação de N em plantas, reduzindo, principalmente, a atividade da enzima redutase de nitrato (RN) (MENDONÇA et al., 2005).

Quando o N é suprido exclusivamente na forma nítrica, as plantas tendem a elevar o pH do meio de crescimento, em razão desse ânion ser absorvido, predominantemente, por um simporte tipo H^+/NO_3^- , que retira prótons do meio externo e ocorre a liberação de hidroxilas. Quando o N é suprido, exclusivamente, na forma amoniacal, o íon NH_4^+ é absorvido por um canal de cátions e ocorre liberação de H^+ pelas raízes, proveniente da dissociação de H_2CO_3 respiratório, portanto, resulta no abaixamento do valor do pH no meio externo (MALAVOLTA, 2006; MARSCHNER, 2002).

A absorção preferencial de NH_4 ou NO_3 parece estar envolvida no comportamento diferencial de genótipos com relação à tolerância ao Al. A ocorrência de efeitos negativos do Al na absorção de N- NO_3 é indicação da inibição induzida pelo Al na absorção de ânions. Entretanto, a reduzida absorção de N- NO_3 , após o suprimento de Al, não pode ser explicada pela inibição induzida por esse cátion ácido na atividade da enzima redutase de nitrato. A retroalimentação negativa na absorção de N- NO_3 , controlada pela taxa de redução desse ânion, só pode ocorrer se houver acúmulo de N- NO_3 em tecidos. Esse fato não tem ocorrido, e, portanto, a reduzida atividade da enzima RN na parte aérea deve ser devido à diminuição nas concentrações de N- NO_3 , e ou reduções no suprimento de energia, via alterações induzidas pelo Al no metabolismo de carboidratos. A ausência de redução na atividade da enzima RN em raízes pode ser devido ao suprimento

direto de N-NO_3 , em níveis adequados, à atividade enzimática (MACHADO 1997).

O Al pode reduzir a fixação biológica do N, afetando a infecção, a iniciação e a curvatura dos pêlos radiculares, para a formação dos nódulos, o crescimento dos nódulos e a atividade da nitrogenase (FOY 1988; MACHADO 1997). O estresse de Al pode interferir na fixação biológica do N_2 através de: (1) efeitos negativos diretamente na planta hospedeira; (2) reduções na sobrevivência de rizóbios e (3) interferências nos vários estádios dos processos de nodulação e de fixação do N (FOY, 1988).

2.2.4 Acúmulo

Na maioria das espécies de plantas, especialmente nas sensíveis ao Al, a absorção desse cátion é limitada ao sistema radicular, onde se acumula, predominantemente, na epiderme e no exterior do córtex (VITORELLO et al., 2005).

No entanto, existem muitas espécies de plantas que acumulam Al na parte aérea. Essas plantas, freqüentemente chamadas de hiperacumuladoras, são, principalmente, plantas lenhosas, de regiões tropicais ou subtropicais, como algumas espécies nativas do cerrado, região central do Brasil. Exemplos clássicos de hiperacumuladoras são as plantas de chá (*Camellia sinensis*), a hortênsia e espécies da família Rubiaceae. São escassas as informações na literatura sobre os mecanismos de localização celular e as formas químicas de Al acumulado nessas plantas. Estudo sobre a forma química do Al, em folhas de chá, constatou que esse cátion predomina na forma quelatizada em polifenóis do grupo catechim, e em menor quantidade

em compostos fenólicos, ácidos orgânicos e complexos de Al-F (VITORELLO et al., 2005).

O teor de Al nas folhas das plantas cultivadas é, em geral, menor que 300 mg kg^{-1} , sendo que nas mais velhas encontram-se maiores concentrações. Já o teor desse cátion nas raízes pode ser mais alto que nas folhas. Por exemplo, as folhas da soja podem conter 182 mg kg^{-1} e as raízes 8.075 mg kg^{-1} (MALAVOLTA, 2006).

Na cultivar Catuaí Amarelo de café o teor de Al nas raízes foi de 8.245 mg kg^{-1} quando cultivado em solução nutritiva com 2 mmol Al L^{-1} (atividade de $330,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto que nas folhas o teor desse cátion foi de 288 mg kg^{-1} (MATTIELLO et al., 2008). Veloso et al. (2000) observaram teor de $189 \text{ mg Al kg}^{-1}$, nas raízes de pimenta do reino cultivada com 4 mmol Ca L^{-1} e $0,7 \text{ mmol Al L}^{-1}$ em solução contendo somente Ca. Na cultivar de soja EMGOPA-303, o teor de Al foi de 1.830 mg kg^{-1} , no sistema radicular, quando cultivado com $1,25 \text{ mmol Ca L}^{-1}$ e $0,015 \text{ mmol Al L}^{-1}$ (MENOSSO et al., 2000).

2.2.5 Absorção e transporte

Para entender as ações tóxicas do Al nas plantas, é importante o entendimento do processo de absorção de íons pelas raízes. O Al atinge a superfície das raízes por difusão ou por fluxo de massa. Pode entrar no espaço livre aparente das células corticais e se concentrar nas células epidérmicas do ápice das raízes (TAYLOR, 1988).

A entrada de Al para o interior da célula pode ocorrer por vários mecanismos. Na forma tóxica (Al^{3+}), esse íon atravessa a membrana plasmática, sendo transportado por proteínas, que, normalmente, tem a função de absorção de íons. Outro possível mecanismo para o Al entrar no citoplasma é por endocitose, onde a

membrana plasmática invagina-se, englobando complexos com Al (KOCHIAN, 1995).

O transporte no apoplasto é principalmente por difusão, sendo secundário o mecanismo por fluxo de massa. Em relação ao solo, as possibilidades de difusão na região da parede celular (ou apoplasto) são mais reduzidas. Os íons, incluindo os nutrientes essenciais, a partir da solução do solo, penetram nas raízes e chegam, primeiramente, ao apoplasto do córtex, sendo barrados pelo plasmalema, do parênquima do córtex e pela endoderme do cilindro central. Esta barreira é bem caracterizada na endoderme, que possui paredes celulares com forte camada de resina lipídica, denominada Estrias de Caspary (MACHADO, 1997).

Ainda que as raízes apresentem teores mais altos de Al, e por isso seja o órgão mais prejudicado pela toxicidade, esse cátion pode ser transportado à longa distância, presumivelmente no xilema, visto que os órgãos da parte aérea, folhas e frutos, por exemplo, podem conter esse (MALAVOLTA, 2006).

2.3 Mecanismos de tolerância das plantas ao alumínio

Os mecanismos fisiológicos responsáveis pela tolerância à toxicidade ao Al ainda não foram esclarecidos, e podem variar entre espécies e cultivares. É provável que esses mecanismos sejam controlados por diferentes genes, que resultam em diversificadas rotas bioquímicas (KOCHIAN, 1995).

Vários são os mecanismos de tolerância ao Al utilizados pelas plantas, os quais podem ser divididos em dois grupos: (1) mecanismos de destoxificação interna ou mecanismos simplásticos, decorrentes da imobilização ou neutralização do Al dentro da célula; e (2)

mecanismos de exclusão ou apoplásticos, com a imobilização ou neutralização do Al externamente à célula. (TAYLOR 1988; MARSCHNER, 2002; WANG et al., 2006; HARTWIG et al., 2007).

Os mecanismos de destoxificação interna incluem a fixação do Al na parede celular; a complexação no simplasma via ligantes orgânicos no citosol; compartimentação do Al nos vacúolos; ligações alumínio-proteína; e evolução de enzimas tolerantes ao Al (TAYLOR, 1988; KOCHIAN, 1995; CONCEIÇÃO, 2006; WANG et al., 2006).

O mecanismo de exclusão envolve a exsudação de ligantes orgânicos pelas raízes. Esses compostos (ácidos orgânicos ou compostos fenólicos), que complexam o Al; os ligantes ao Al contido na mucilagem secretada pelas raízes; o efluxo do Al acumulado; a imobilização das paredes celulares; o aumento do pH na rizosfera; precipitando o Al em solução; o transporte ativo para fora do citoplasma celular e a liberação de exsudatos orgânicos radiculares, os quais formam complexos ou quelatos com o Al, evitando assim a sua absorção pelas raízes (TAYLOR, 1988; KOCHIAN, 1995; CONCEIÇÃO, 2006; WANG et al., 2006).

2. 3. 1 Mecanismos de destoxificação interno

2.3.1.1 Fixação do alumínio na parede celular

A parede celular e a membrana plasmática podem atuar como uma barreira à absorção do Al, uma vez que alterações na composição de fosfolipídios podem promover a modificação de suas propriedades elétricas, dificultando a interação do Al com a membrana plasmática (TAYLOR, 1988). Assim como a menor produção de proteínas genótipos-específicos de transporte do Al através da membrana,

decorrente da supressão na expressão de genes que as codificam, resultando no menor fluxo de Al para o interior da célula em genótipos tolerantes (ZHANG e BLOOM, 1999).

2.3.1.2 Complexação no simplasma

A quelação do Al por ligantes no citosol pode reduzir a atividade da espécie monomérica desse cátion e seus efeitos fitotóxicos. Há indícios da existência de polipeptídios que atuam no citosol como moléculas quelantes, complexando o Al presente no interior da célula. Além disso, admite-se a existência de enzimas indiferentes, que não teriam sua atividade prejudicada na presença do Al; bem como na eliminação desse cátion do ambiente celular por compartimentalização no vacúolo ou em outra estrutura similar (TAYLOR, 1988).

2. 3. 2 Mecanismos de exclusão

2.3.2.1 pH da rizosfera

É importante compreender como ocorre a toxicidade do Al nas plantas, para melhor compreensão dos mecanismos de tolerância a este elemento. Neste caso, vários efeitos são descritos na literatura como sendo os principais envolvidos com a toxicidade do Al. Quando o pH do solo é $\leq 5,5$, e na presença do Al^{3+} , o mesmo solubiliza-se na solução do solo, tornando-se potencialmente tóxico para as plantas; em pH neutro, é formado a gibsite, $Al(OH)_3$, relativamente insolúvel; e no pH comumente estabelecido no citoplasma da célula (\sim pH 7,4), o íon aluminato ($Al(OH)_4^-$) é a forma dominante (KOCHIAN, 1995).

O incremento do pH da rizosfera via influxo de H^+ foi um dos principais mecanismos defendido no início dos estudos sobre

tolerância ao Al. Este mecanismo se baseia na incorporação do íon H^+ pelas raízes e aumento do pH ao redor do ápice radicular, o que reduz a atividade do Al tóxico na rizosfera (TAYLOR, 1988).

O aumento do pH na região da rizosfera também caracteriza uma forma de exclusão do Al, proporcionando a precipitação deste elemento, impossibilitando sua absorção (CANÇADO et al., 2002).

O efeito positivo do maior teor de $N-NO_3$ no pH do solo levou à hipótese de que diferenças em tolerância ao Al poderiam ser baseadas em diferenças de absorção de NO_3 e NH_4 , resultante da preferência entre espécies ou cultivares. Embora o N tem o papel dominante no equilíbrio de absorção de nutrientes na liberação de H^+ ou OH^- na raiz, sob condições de estresse ao Al, nutrientes como o K, Mg, P, Ca e Fe também contribuir. Em condições de deficiência de P e Fe, o balanço iônico de algumas espécies pode ser especificamente perturbado, resultando em uma redução extraordinária no pH da rizosfera. O baixo pH do solo aumenta a disponibilidade Fe, portanto a deficiência de Fe não é provável em solos ácidos. A disponibilidade de P em solos ácidos, por outro lado, será muitas vezes sub-ótima, devido à interação Al-P (MARSCHNER, 2002).

2.3.2.2 Capacidade de troca de cátions da raiz

A baixa capacidade de troca catiônica (CTC) da parede celular da raiz tem sido considerada como um mecanismo externo de tolerância ao Al, sugerindo que plantas com menor CTC apresentariam uma menor capacidade de absorver este íon tóxico para o interior da célula (RENGEL e REID, 1997).

Há plantas que têm baixa CTC na raiz, portanto, maior afinidade por cátions monovalentes, de modo que acumulam, assim,

menor concentração de Al em suas raízes. Esta é uma das explicações porque as gramíneas, que possuem menor CTC na raiz, são mais tolerantes do que as leguminosas (FOY, 1988).

2.3.2.3 Mucilagem

As mucilagens consistem em material gelatinoso, com alto peso molecular, formado, principalmente, de polissacarídeos. Possuem várias funções biológicas, como proteção da zona apical das raízes e aumento do contato solo-raiz, principalmente, em solos secos (PIRES, 2003).

Existem plantas que desenvolvem a capacidade de secretar mucilagem na presença do Al. Esse cátion, para chegar à região meristemática sensível, tem que primeiro penetrar e atravessar a mucilagem do ápice da raiz. Região essa onde a mucilagem é mais intensa. Esta camada pode constituir um importante mecanismo que protege o meristema de lesão ao Al (ARCHAMBAULT et al., 1996).

A adsorção do Al pelas cargas negativas da mucilagem radicular, onde ocorre a penetração do Al no meristema radicular, é outro exemplo de escape à toxicidade do Al (GUIMARÃES et al., 2006; WANG et al., 2006). Tem-se observado, também, que a exsudação de mucilagens, com propriedades químicas para se ligar ao Al, pelas células periféricas do sistema radicular, protege os pontos de crescimento da planta quanto à ação tóxica do Al (GUIMARÃES et al., 2006).

Outras barreiras que o Al pode enfrentar, para atingir as regiões sensíveis do meristema radicular, são a mucilagem (ARCHAMBAULT et al., 1996) e a deposição de calose (ZHENG et al., 2005), que são substâncias formadas por polissacarídeos, as quais

revestem a superfície radicular protegendo as regiões de crescimento da raiz, retendo o Al presente no apoplasto.

2.3.2.4 Nutrientes

Algumas plantas têm a capacidade de melhor utilizar os nutrientes, principalmente, P e Ca, em presença de Al, para amenizar a toxicidade causada por esse cátion. Nestas condições, estas plantas mantêm, em suas raízes ou na parte aérea, níveis adequados de certos macronutrientes e micronutrientes. As cultivares tolerantes de arroz apresentam, quase sempre, na presença de níveis tóxicos de Al, teores de P e Ca mais elevada que as cultivares sensíveis (MARSCHNER, 2002; GUIMARÃES et al., 2006).

Plantas submetidas a níveis tóxicos de Al acumulam mais P no sistema radicular. Isto ocorre, possivelmente, em virtude de uma reação de adsorção-precipitação entre Al e P nas raízes, sobretudo na parede das células epidérmicas e corticais (FERREIRA et al., 2006).

Em raízes de ervilha, o Al provocou aumento na atividade da ATPase e da fosfatase ácida, sendo a tolerância diferencial de duas cultivares atribuída aos efeitos diferenciais do Al sobre a atividade de ATPase, maior na cultivar tolerante (FOY, 1988).

A deficiência em Ca é especialmente pesquisada, visto que a inibição de sua absorção provocada pela presença do Al tóxico ocorre de forma rápida e reversível, podendo estar associada a mudanças da homeostase celular e o bloqueio de canais de Ca na membrana plasmática, afetando processos como mitose, citocinese, gravitropismo, crescimento polar, correntes citoplasmáticas e sinalização celular (KOCHIAN, 1995).

2.3.2.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos apresentam a peculiaridade de complexar metais, como o Al, além de ter ação como agente antioxidante, em condições de estresses abióticos, por isso, estes compostos começaram a ser relacionados com a tolerância ao Al. Reporta-se que compostos fenólicos formam fortes complexos com o Al em pH neutro (no citosol) e implicam em desintoxicação do Al internamente em ervas de chás, especialmente, e outras espécies que acumulam Al (HARTWIG et al., 2007).

Os danos causados pelo Al podem ser amenizados pelo boro, micronutriente relacionado à biossíntese de compostos fenólicos. O acúmulo de compostos fenólicos e o aumento na atividade da polifenol-oxidase resultam na produção de intermediários reativos que, indiretamente, podem intensificar a produção de radicais livres. Após tratamentos prolongados com Al, as raízes das plantas tornam-se escuras, o que em parte, é decorrente da oxidação de compostos fenólicos (PEIXOTO et al., 2007).

Em contraste, alguns compostos fenólicos podem formar complexos estáveis com o Al, contribuindo para a sua desintoxicação nos tecidos. A lignina, por exemplo, contribui para a redução dos danos causados pelo Al, o que possivelmente ocorre devido ao consumo de compostos fenólicos e de H_2O_2 durante a sua deposição na parede celular (BARCELÓ e POSCHENRIEDER, 2002).

A exsudação de catechol e de flavonóides (catequina e quercetina) aumenta com a concentração externa de Al em milho tolerante, demonstrando que esses compostos podem estar envolvidos no processo de tolerância a esse cátion. Os ácidos fenólicos têm sido encontrados como compostos da parede celular de várias

monocotiledôneas e também em algumas dicotiledôneas. Estes compostos são classificados como metabólitos secundários e estão amplamente distribuídos nas plantas (RAPOSEIRAS et al., 2005).

2.3.2.6 Ácidos orgânicos

Ácidos orgânicos de baixo peso molecular são produzidos, principalmente, na mitocôndria, através do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs) e, em menor medida, no glioxissomo. Devido à natureza catalítica do ciclo de Krebs, os ácidos orgânicos estão presentes em pequenas porções na mitocôndria e, preferencialmente, são armazenados no vacúolo. Estes tipos de ácidos são produtos secundários do metabolismo de compostos de alto peso molecular, como carboidratos, lipídeos e peptídeos (LOPEZ-BÚCIO et al., 2000; SUÁREZ et al., 2008). Os ácidos orgânicos envolvidos na atenuação da toxicidade de Al são compostos de baixo peso molecular, como o oxálico, tartárico, succínico, málico e cítrico. Estes compostos, também, estão diretamente envolvidos em vários processos, que ocorrem na interface solo-raiz, como a podzolização, o aumento da disponibilidade de nutrientes, como o P, entre outros (SILVA et al., 2002; ANDRADE et al., 2003; WANG et al., 2007).

O ácido málico é um ácido dicarboxílico, com valores de pK aproximadamente, de 3,3 e 5,1, dependendo da concentração de sal no meio. Enzimas, usando malato como substratos estão localizados no citosol, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e glioxissomos, e são envolvidas em diferentes vias metabólicas (MARTINOLA e RENTSCH, 1994).

Os ácidos orgânicos são importante fonte de C lábil, para os microorganismos do solo, aumentando a biomassa microbiana, o que

diminui o tempo médio de residência desses compostos no solo. Os ácidos orgânicos são rapidamente degradados no solo, com tempo de meia vida variando de 0,5 a 12 horas (VAN HEES et al., 2005). O ácido oxálico e o ácido tartárico são comuns na rizosfera, sendo produzidos por células microbianas na forma de exsudatos radiculares de cereais. Esses ácidos podem interagir com compostos bioquímicos e minerais, na rizosfera, resultando na precipitação de óxidos de Fe e de Al (CRISTOFORO et al., 2000).

A composição dos ácidos orgânicos que podem acumular no solo varia com a espécie, idade e o tipo de tecido da planta (JONES, 1998). O alto acúmulo de ácido orgânico nos tecidos vegetais é, provavelmente, devido ao importante papel que eles desempenham na fotossíntese. Os ácidos orgânicos participam no metabolismo ativo de solutos, regulando o ajuste osmótico e o equilíbrio de cátions. Esses compostos participam como componentes-chave em mecanismos das plantas relacionados a deficiências nutricionais, tolerância a metais e interação planta micróbio na interface raiz-solo (LOPEZ-BÚCIO et al., 2000).

Outra função importantíssima dos ácidos orgânicos está relacionada com a fitodisponibilidade de P, uma vez que estes compostos são capazes de dissociar os complexos Al-P e Fe-P, formando compostos estáveis com o Al e Fe e liberando o P para a solução do solo (PIRES, 2003; HARTWIG et al., 2007).

A exsudação de ácidos orgânicos, como o málico, o cítrico e o oxálico têm sido indicados como um mecanismo eficiente das plantas para tolerar a toxicidade do Al. Esses compostos são produzidos constantemente pelas raízes das plantas, sendo eficientes em complexar o Al, dependendo do tipo e da quantidade de grupos

funcionais (OH^- ou COO^-), na cadeia carboxílica (SCHLINDWEIN et al., 2003).

Os ácidos orgânicos são capazes de formar moléculas estáveis com a forma monomérica mais tóxica do Al, diminuindo a fitotoxicidade desse cátion (MA et al., 2001).

O ácido cítrico e ácido málico são considerados ácidos orgânicos de alta atividade de complexação e competição no solo, pois apresentam maior número de grupos funcionais ativos, portanto, maior efetividade (PAVINATO e ROSOLEM, 2008). Existem algumas preferências de complexação entre compostos orgânicos e íons do solo. O Al é, preferencialmente, complexado com o ácido cítrico, por isso, muitas vezes, algumas espécies de plantas, que produzem mais quantidade de compostos, têm maior capacidade em diminuir o Al tóxico do solo. Já o ácido málico, liga-se preferencialmente com o Ca. O valor da constante de estabilidade do ácido málico com o Al é de 4,6, sendo menor que a do ácido cítrico, que é de 8,0, sendo essa a explicação para maior complexação do ácido cítrico com o Al e do ácido málico com o Ca (PAVINATO e ROSOLEM, 2008).

Evidências têm sido relatadas sobre o mecanismo de tolerância ao Al, baseado na desintoxicação interna, onde esse cátion pode ser complexado pelos ácidos orgânicos na via simplasta do Al. Esse mecanismo foi detectado, primeiramente, em trigo, onde genótipos tolerantes acumularam de três a oito vezes menos Al no ápice da raiz, em relação a genótipos sensíveis (HARTWIG et al., 2007).

Em geral, existem genótipos tolerantes ao Al, em várias espécies de plantas, devido a ação deste mecanismo de tolerância. Entre as diferentes espécies vegetais, existe uma especificidade do ácido orgânico que atua neste mecanismo. Esse mecanismo tem sido

associado ao trigo e ao milho, entre outras espécies. Em milho, o ácido cítrico tem sido indicado como um dos ácidos orgânicos específicos associados à tolerância ao Al dessa espécie (KOCHIAN, 1995).

A exsudação de ácido orgânico na raiz é dependente da composição da solução do solo. A deficiência de P, por exemplo, aumenta a concentração dos ácidos orgânicos. A absorção de nitrato aumenta o pH citoplasmático e induz a formação do ácido málico, o que resulta em mecanismo de compensação. A redução da concentração de ácido málico nas raízes de milho está relacionada ao fornecimento de N, na forma de uréia, em detrimento à forma de nitrato (PETERSEM e BÖTTGER, 1991).

A concentração de ácido orgânico, na maioria dos solos cultivados, é menor que $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. A decomposição da matéria orgânica é a principal fonte desses compostos no solo, mas a lavagem dos resíduos vegetais e a produção de exsudatos radiculares e microbianos, também, são importantes fontes (GUPPY et al., 2005).

Os resíduos vegetais contêm ácidos orgânicos em concentrações que variam de acordo com o sistema fotossintético da planta (C_3 , C_4 , CAM), com o estado nutricional e com a idade. (FRANCHINI et al., 2003).

Dois padrões (Padrões I e II) ou modelos de mecanismos são mencionados por MA et al. (2001) para descrever a liberação de ácidos orgânicos em plantas cultivadas com Al. Enquanto que experimentos identificaram alguns dos componentes do modelo do Padrão I, os representados no Padrão II são inteiramente especulativos.

No Padrão I, não é discernível o atraso observado entre a adição de Al e a liberação de ácidos orgânicos. Por exemplo, no trigo e no trigo mourisco, a excreção de malato ou de oxalato, respectivamente, foi detectado de 15 a 30 min após exposição ao Al. No Padrão II, isso ocorre várias horas após a exposição ao Al^{3+} . No milho, é possível que o Al possa acionar tanto um rápido efluxo de citrato como isso pode ocorrer após um período longo de tempo, aumentando por 48 horas (MA et al. 2001).

Ma et al. (2001) descreveram o modelo em que o Al estimula a excreção de ácidos orgânicos pelas raízes. No Padrão I, o Al ativa um canal de ânion, na membrana plasmática, que é permeável a ânions de ácidos orgânicos. Este estímulo poderá ocorrer pelos seguintes mecanismos: (1) o Al^{3+} interage diretamente com a proteína do canal, para acionar a sua abertura; (2) o Al^{3+} interage com um receptor específico (R) sobre a superfície da membrana, ou com ela própria, e inicia uma mensagem secundária, em cascata, que, em seguida, ativa o canal; ou (3) o Al^{3+} entra no citoplasma e ativa o canal, direta ou indiretamente, através de mensageiros secundários. O efluxo de ácidos orgânicos ativado pelo Al, em milho, provavelmente, ocorre pelo mecanismo 1. No Padrão II, o Al interage com a célula, através de um receptor de proteína (R) sobre a membrana plasmática. Esta interação ativa a transcrição dos genes que codificam proteínas envolvidas com o metabolismo dos ácidos orgânicos, ou o seu transporte em toda a membrana plasmática. Os ânions de ácido orgânico formam um complexo estável com o Al, e assim ocorre a desintoxicação na rizosfera.

Não se sabe como o Al ativa os canais de ânions, mas algumas possibilidades foram propostas por Ma et al. (2001): (1) o Al interage

diretamente com o canal de proteína para desencadear a abertura; (2) o Al interage com um receptor específico sobre a superfície de membrana ou com a membrana para iniciar uma mensagem secundária, em cascata, que então ativa o canal; e (3) o Al entra no citoplasma e ativa o canal diretamente ou indiretamente, através de mensageiros secundários.

O ácido cítrico é o mais comum entre as espécies vegetais, como ácido orgânico exsudado na presença do Al. Esse ácido orgânico é, também, o mais efetivo por ser um ânion tricarboxilado, formando quelatos com o Al muito mais estável se comparados com os quelatos formados pelo ácido málico (ânion dicarboxilado) (HARTWIG et al., 2007). Trabalho realizado por Menosso et al. (2001) mostraram que cultivares de soja tolerante ao Al pode ser diferenciado das sensíveis devido ao maior acúmulo de ácido cítrico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições gerais do experimento

O experimento foi conduzido em estufa plástica do Curso de Agronomia da Universidade de Passo Fundo, em Passo Fundo, RS, de setembro a outubro do ano de 2008.

Foram utilizados dois híbridos de milho (*Zea mays* L.) da empresa Pioneer, 30F53 (ciclo precoce) e 32R48 (ciclo superprecoce). As sementes foram selecionadas, tratadas com fungicida, para controlar *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, e colocadas para germinar, enroladas em papel filtro, embebido em água destilada. Com o objetivo de produzir radículas sem dobras, os roletes de papel filtro foram dispostos verticalmente dentro de béqueres de 1,0 L contendo 100 mL de água destilada. Estes recipientes foram colocados em câmara de germinação, com iluminação e temperatura de 25 °C.

Ao apresentarem 3,0 cm de comprimento de raiz, as plântulas foram transplantadas para vasos de polietileno, pintados de branco, de 7,0 L, na densidade de 13 plantas por vaso. Os vasos foram conectados, através de mangueiras de látex, a um sistema de aeração, impulsionado por um compressor. Para suportar as plântulas no vaso, foi utilizada uma placa de isopor de 30 cm de diâmetro, colada embaixo de outra de 40 cm, perfazendo 4 cm de espessura, com 13 furos de 2 cm de diâmetro. Cada plântula foi sustentada por um cilindro de isopor cortado longitudinalmente até $\frac{3}{4}$ do diâmetro.

Na implantação do experimento foram selecionadas as plântulas mais uniformes, sem danos visíveis na raiz e no coleóptilo. Foi medido o comprimento inicial da raiz seminal e, ao término do cultivo, 21 dias após o transplante, foi medido o comprimento final da

raiz seminal. Subtraindo o valor obtido do comprimento final do valor do comprimento inicial, foi estimado o comprimento da raiz seminal.

3.2 Solução nutritiva e especiação química

Foram testados 12 tratamentos, com 4 repetições, em esquema bifatorial (níveis de Al e híbridos). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso. As concentrações de Al foram: 0,00; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25 e 1,50 mmol L⁻¹, sendo este cátion, adicionado na forma de tricloreto de alumínio hexahidratado (AlCl₃.6H₂O).

A solução nutritiva utilizada nos vasos contendo os tratamentos testados correspondeu à proposta por Hoagland e Arnon (1938), com adaptação (Tabela 1). O pH da solução foi mantido em 4,5, com adição de HCl 0,1 mmol L⁻¹ ou KOH 0,1 mmol L⁻¹, a cada 24 horas. Esse valor de pH foi adotado para aumentar a disponibilidade de Al³⁺, que é a principal espécie tóxica deste cátion, neste valor de pH.

A concentração de sais da solução nutritiva e de Al foi ajustada para 50, 75 e 100 %, na primeira, segunda e terceira semana, após o transplante, respectivamente. Isto teve a finalidade de adaptar as plântulas de milho ao teor de sais da solução nutritiva, pois a condutividade elétrica inicial foi de aproximadamente de 2,0 mS cm⁻¹, sendo considerada elevado para as plântulas recém germinadas.

A especiação química da solução nutritiva foi realizada com o auxílio do programa computacional Visual Minteq versão 2.53, a partir das concentrações totais (mmol L⁻¹) dos cátions e dos ânions, do valor de pH 4,5 e da condutividade elétrica da solução. Com os resultados da especiação química, obteve-se a atividade e a

distribuição percentual das espécies de Al e demais elementos químicos presentes na solução nutritiva na terceira semana (100 % da concentração de sais). As concentrações de Al testadas corresponderam às seguintes atividades desse cátion: 0,00; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Tabela 1. Soluções-estoque utilizadas no preparo da solução nutritiva, adaptada de Hoagland e Arnon (1938)

Solução estoque	Composto	g L^{-1}	mol L^{-1}	$\frac{\text{mL}}{7 \text{ L}^{-1}}$	$\mu\text{mol L}^{-1}$
A	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,1	1,0	35	$5 * 10^3$
B	KNO_3	101,1	1,0	35	$5 * 10^3$
C	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,4	1,0	14	$2 * 10^3$
D	KH_2PO_4	136,1	1,0	8,75	$1,25 * 10^3$
I	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08	0,00032	7	0,32
	H_3BO_3	2,86	0,04626		46,26
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,072	0,00030		0,30
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81	0,00934		9,34
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,33	0,00115		1,15
J	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ¹	4,865	0,0175	20	50

¹Na solução de Hoagland e Arnon (1938), o FeEDTA é proposto como fonte de Fe. Esse composto foi substituído por $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, adicionado diariamente.

3.3 Determinações e análise estatística

Imediatamente após a coleta, as plantas foram lavadas em solução contendo 1 % de detergente Extran e enxaguadas duas vezes em água destilada. Foi separada a parte aérea das raízes para, posteriormente, ser obtida a massa fresca e a massa seca (secagem em estufa, a 65 °C, por 72 horas) de ambas as partes.

As variáveis avaliadas foram: comprimento da raiz seminal (medido com régua de 50 cm), massa fresca e seca da raiz seminal, do sistema radicular e da parte aérea (pesado em balança), diâmetro de colmo (medido com paquímetro) e número de raízes secundárias.

Foram determinados os teores de ácidos orgânicos de baixo peso molecular e não voláteis nas raízes adventícias e fasciculadas, segundo Menosso et al. (2001). Na parte aérea, a determinação desses ácidos foi efetuada na segunda folha dos dois híbridos de milho. Foram determinados os teores de Al da raiz e da parte aérea das plantas, usando espectrofotômetro de absorção atômica, conforme Tedesco et al. (1995).

Para determinar os ácidos orgânicos, as raízes foram separadas da parte aérea, lavadas e enxaguadas, conforme citado anteriormente, acondicionadas em sacos plásticos, congeladas e estocadas até a extração. Para essa extração, foi utilizado 0,10 g de tecido vegetal fresco (cerca de 2 cm do ápice da raiz adventícia e da raiz fasciculada) e previamente descongelado. Este material foi macerado em gral de porcelana, com 10 mL de etanol, grau HPLC a 80 %, e mais 10 mL desse composto, adicionados para a limpeza, a temperatura ambiente. Após a maceração, as amostras foram filtradas com filtro a vácuo, com membrana de 0,22 μm de diâmetro de poro. As amostras foram acondicionadas em tubos plásticos e acidificadas com 15 gotas de ácido sulfúrico 0,5 mmol L^{-1} , sendo o valor de pH ajustado para aproximadamente 2,0. Este extrato foi congelado até a leitura dos ácidos orgânicos, que foi efetuada em cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC), com detector UV, comprimento de onda de 230 nm e coluna C-18 de fase reversa (250 x 4,6 mm). O volume injetado da amostra foi de 20 μL . Utilizou-se água deionizada com 0,1 % de ácido fosfórico, como fase móvel, com fluxo de 1 mL min^{-1} . As misturas-padrões de calibração foram compostas pelos ácidos orgânicos alifáticos e não voláteis: cítrico, láctico, málico, oxálico e succínico. Os ácidos orgânicos foram quantitativamente identificados

pela comparação dos tempos de retenção e das áreas dos picos das amostras com aqueles da série dos padrões químicos do HPLC, expressos em base úmida.

Para comparar à tolerância dos híbridos a toxicidade de Al foi estimada a atividade crítica de Al em solução, que reduz em 10 % o valor das variáveis de crescimento avaliadas. Esta atividade foi estimada com base nas equações de regressões obtidas em relação a resposta de cada híbrido ao aumento de Al em solução e considerando o decréscimo de 10 % das variáveis avaliadas, em relação ao obtido no tratamento sem Al.

Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância, efetuados com o software Sisvar. O efeito das atividades de Al foi avaliado com análise de regressão. Os modelos selecionados, nessa análise, foram aqueles cujo teste T de todos os parâmetros da regressão foi significativo, ao nível de 5 % de probabilidade do erro. Além disso, selecionaram-se modelos com maior valor do coeficiente de determinação e polinômios de menor grau.

O efeito do tipo de híbrido foi avaliado com o teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando o software Sisvar.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Aspectos visuais das plantas de milho

Observaram-se diferenças em aspectos visuais das plantas de milho cultivadas sem (testemunha) e com Al ($29 \mu\text{mol L}^{-1}$ de atividade), após a terceira semana de cultivo (Figura 1). Essa diferença foi observada na parte aérea e nas raízes de ambos os híbridos avaliados. Embora o efeito do Al no menor crescimento da parte aérea, como observado nas plantas avaliadas, deva ser considerado importante, sabe-se que esse efeito resulta dos danos do Al no sistema radicular. Conforme Baligar et al. (1993), um dos principais efeitos do Al é a inibição do crescimento das raízes, que ficam curtas e grossas. Para estes autores, o comprimento das raízes é a característica mais sensível para avaliar a tolerância das plantas ao Al.



Figura 1. Parte aérea e sistema radicular de plantas de milho cultivado em solução nutritiva com e sem alumínio (Al). Atividade de

15; 21 e 29 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$, respectivamente, na primeira, segunda e terceira semana de cultivo. Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009).

Observou-se, visualmente, diminuição no volume das raízes de milho, em função do aumento da atividade de Al (Figura 2). Isso foi observado em ambos os híbridos. Notou-se, também, diminuição no comprimento da raiz seminal.



Figura 2. Sistema radicular de onze plantas de milho cultivado em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de alumínio (Al). Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009).

Nas raízes dos dois híbridos de milho, a partir das concentrações de 1,0 mmol Al L^{-1} (atividade de 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$, na terceira semana), observou-se o aparecimento de tonalidades castanhas, aspecto de corais e engrossamento dos ápices da raiz

(Figura 3). O Al^{3+} induz a deficiência de B, o que causa acúmulo de fenóis nas raízes, resultando na coloração castanha ou marrom dessa parte da planta (DIXON e PAIVA, 1995). Esses sintomas também foram relatados por Anjos (2007), em trabalho com milho submetido a concentrações crescentes de Al. Estes também foram observados em outras espécies vegetais, como o sorgo, (PEIXOTO et al., 2007), plântulas de *Adesmia tristis* (SCHEFFER-BASSO et al., 2000), cafeeiro, trigo, feijão e sorgo (BRACCINI et al., 1998).

O espessamento das raízes, aparentemente, é causado pela inibição do alongamento celular e pelo aumento no alargamento de algumas camadas de células, principalmente da região do córtex. Além disso, o enrijecimento da rede de filamentos de actina, provocado pelo Al^{3+} , interfere na divisão celular, o que também contribui para a ocorrência desses espessamentos (SASAKI et al., 1996).

Já o aspecto visual das raízes das plantas cultivadas na solução sem Al diferiu das cultivadas na solução contendo esse cátion, pois eram longas, filiformes, de superfície externa lisa e de coloração mais clara que as cultivadas com Al.

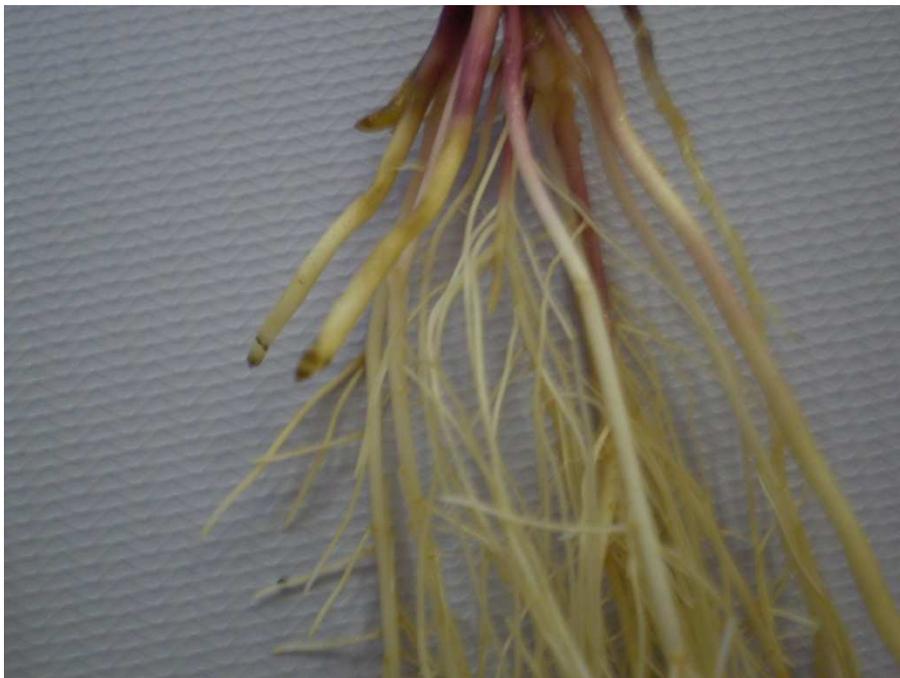


Figura 3. Coloração castanha de raiz de milho, cultivado em solução nutritiva com $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de alumínio. Atividade de 7,5; 11,25 e $15 \text{ } \mu\text{mol Al L}^{-1}$, respectivamente, na primeira, segunda e terceira semana de cultivo. Híbrido 30F53. (Passo Fundo-RS, 2009).

4.2 Massa fresca e seca das plantas

Não houve interação entre as atividades de Al e os híbridos utilizados nos valores da massa fresca e da massa seca das raízes seminais, do sistema radicular e da parte aérea (Apêndices 1 e 2). No entanto, houve diferenças nos valores de todas essas variáveis em função do efeito isolado das atividades de Al e também se observou diferenças nos valores da massa fresca da raiz seminal, do sistema radicular e da massa fresca e seca de parte aérea em função dos híbridos.

Os valores da massa fresca da raiz seminal (MFRS) e do sistema radicular (MFSR) diminuíram linearmente ($r^2 = 0,71$ e $0,98$, respectivamente) com o aumento da atividade de Al em solução (Figura 4). As equações ajustadas com os resultados ilustrados nessa figura ($MFRS = 23,44 - 0,14 \text{ Al}$ e $MFSR = 55,53 - 0,38 \text{ Al}$) estimam que essas variáveis decrescem $0,14$ e $0,38$ g, respectivamente, com o acréscimo de $1,0 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, quando os híbridos de milho utilizados são cultivados na solução testada. Na atividade de $29 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, os valores dessas variáveis foram $18,06$ g e $43,20$ g, sendo $81,46 \%$ e $79,80 \%$, respectivamente, menores que os observado na testemunha.

Os resultados da MFSR obtidos neste trabalho foram semelhantes aos relatados por Calbo e Cambraia (1980), em trabalho com cultivo de sorgo, em diferentes concentrações de Al. Isso também foi observado por Silva (1998), em trabalho com essa mesma espécie.

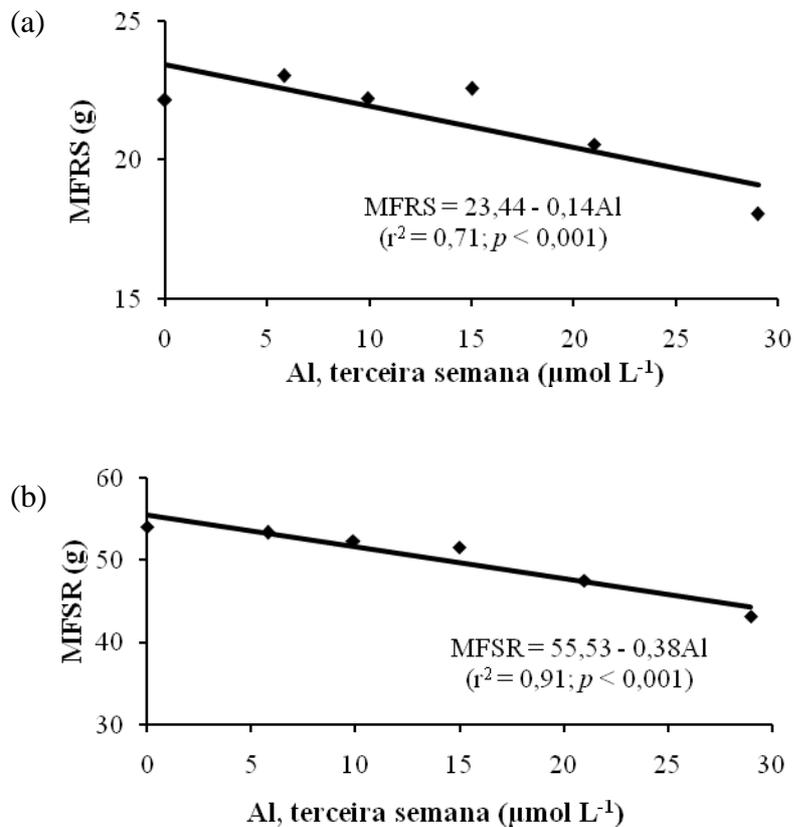


Figura 4. (a) Massa fresca da raiz seminal (MFRS) e (b) massa fresca do sistema radicular (MFSR) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Como observado com o sistema radicular, os valores da massa fresca da parte aérea reduziram de forma linear ($p < 0,001$), em função do aumento da atividade de Al na solução (Figura 5). A equação ajustada com os resultados ilustrados nessa figura ($\text{MFPA} = 60,76 - 0,94 \text{ Al}$) estima que essa variável decresce 0,94 g com o acréscimo de $1,0 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, quando os híbridos de milho utilizados

são cultivados na solução testada. Esse decréscimo representa uma redução de 73 % em relação ao obtido na solução sem Al, em função do acréscimo de 15 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$. Nas atividades de Al testadas na terceira semana de cultivo: 29; 21; 15; 9,9; 5,81 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$, esses valores corresponderam a 58, 63, 73, 84 e 92 %, respectivamente, da MFPA obtida nas plantas testemunhas.

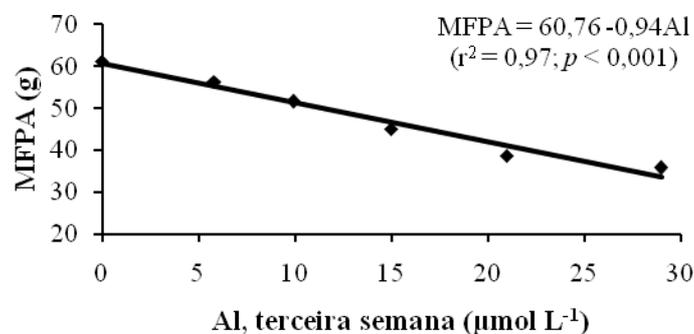


Figura 5. Massa fresca da parte aérea (MFPA) de milho cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Os valores da massa seca da raiz seminal (MSRS) e da massa seca do sistema radicular (MSSR), também, decresceram de forma linear, com o aumento das atividades de Al (Figura 6). Os valores da MSRS, observados com as atividades de 0,00; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ foram de 1,60; 1,59; 1,53; 1,54; 1,40 e 1,31 g, respectivamente; enquanto que os valores da massa seca do sistema radicular foram de 4,38; 4,21; 4,14; 4,09; 3,77 e 3,60 g, respectivamente, na média dos dois híbridos. Esses resultados

concordam com os relatados por Floss (1992), que, também, observou diminuição na produção de MSSR, em aveia, com o aumento de concentrações de Al em solução nutritiva.

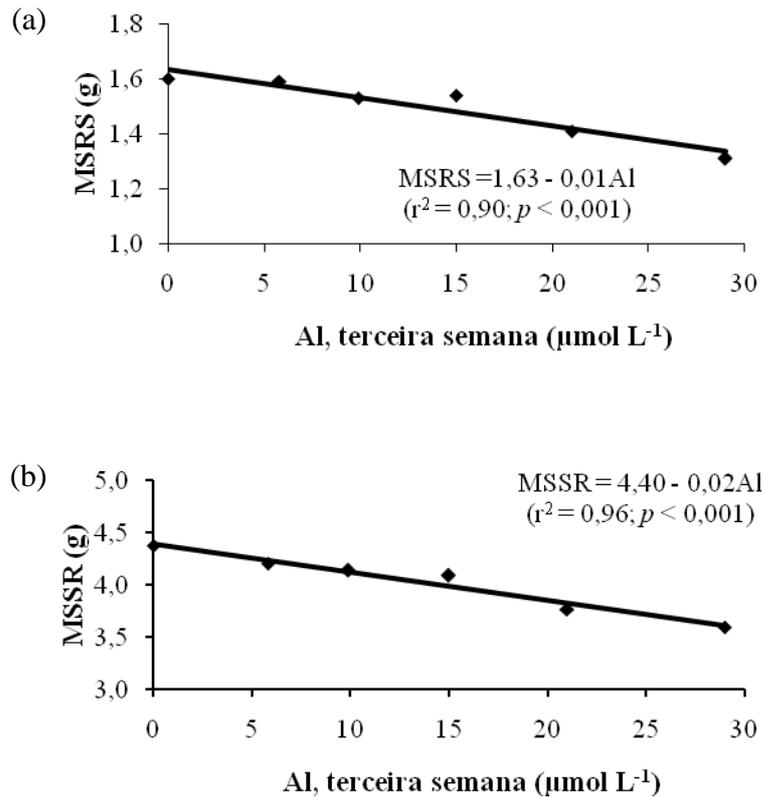


Figura 6. (a) Massa seca da raiz seminal (MSRS) e (b) massa seca do sistema radicular (MSSR) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

As equações ajustadas com os resultados ilustrados na figura 6 (MSRS = 1,63 - 0,01 Al e MSSR = 4,40 - 0,02 Al) estimam que essas

variáveis diminuem 0,01 e 0,02 g, respectivamente, com o acréscimo de $1,0 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ quando os híbridos de milho utilizados são cultivados na solução testada. Os resultados da figura 6 mostram que a atividade de $29 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ foi a que mais reduziu os valores de MSRS e MSSR.

As equações de regressão ajustadas com os resultados das variáveis analisadas no sistema radicular mostram que, quando estes foram expressos em base seca, o efeito do Al na MSRS e na MSSR foi semelhante, reduzindo em torno de 9 % os valores dessas variáveis com o acréscimo de $1 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, na terceira semana de cultivo (Figura 6). Por outro lado, a intensidade desse efeito diferiu quando estas variáveis foram expressas em base fresca, correspondendo a 9% (MFRS, Figura 4a) e a 8 % (MFSR, Figura 4b).

A análise de regressão obtida a partir da média dos híbridos indicou que a massa seca da parte aérea (MSPA) reduziu linearmente com o aumento do Al em solução (Figura 7). A equação $\text{MSPA} = 7,71 - 0,10 \text{ Al}$ estima que essa variável reduziu 0,10 g com o acréscimo de $1,00 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ adicionado na solução. Os valores observados dessa variável corresponderam a 8,72; 6,14; 6,58; 5,82; 5,24 e 5,11 g, nas concentrações de 0,00; 5,81; 9,90; 15; 21 e $29 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados por Floss (1992), com cultivares de aveia; e por Pintro (2002), com híbridos de milho.

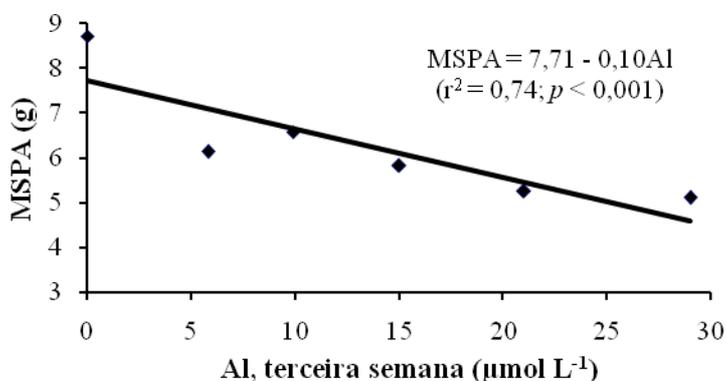


Figura 7. Massa seca da parte aérea (MSPA) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Comparando os resultados da massa fresca e da massa seca da raiz seminal e do sistema radicular, com os resultados da massa fresca e seca da parte aérea (Figuras 4, 5, 6 e 7), observa-se que os valores de todas essas variáveis reduziram, em função do acréscimo das atividades de Al. Esses efeitos estão de acordo com as altas atividades de Al utilizadas no trabalho. Resultados similares foram encontrados por Pinto (2002), em híbridos de milho, em relação à massa seca do sistema radicular e da parte aérea.

Na média das atividades de Al testadas, os resultados da MFRS, da MFSR, da MFPA e da MSPA diferiram entre os dois híbridos estudados (Tabela 2). Por outro lado, isso não foi observado em relação aos resultados da MSRS e da MSSR ($p = 0,5269$ e $0,1843$, respectivamente).

Como mostram os resultados da tabela 2, os valores da MFPA e da MSPA foram maiores no híbrido 32R48 (50,86 e 6,69 g,

respectivamente), enquanto que os maiores valores da MFRS e da MFSR (23,68 e 54,29 g, respectivamente) foram obtidos com o híbrido 30F53. Essas diferenças estão relacionadas com o número de dias do ciclo de crescimento dos híbridos, pois esse é menor no híbrido 32R48 (superprecoce) do que no híbrido 30F53 (precoce). Assim, no momento da colheita do experimento, o híbrido 32R48 estava com 4 folhas totalmente expandidas, enquanto que a quarta folha do híbrido 30F53 não estava ainda com este grau de expansão.

Tabela 2. Massa fresca da raiz seminal (MFRS), da massa fresca do sistema radicular (MFSR), da massa fresca da parte aérea (MFPA), da massa seca da raiz seminal (MSRS), da massa seca do sistema radicular (MSSR) e da massa seca da parte aérea (MSPA) de dois híbridos de milho cultivados, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio. Média das atividades testadas de alumínio (Passo Fundo-RS, 2009)

Híbrido	MFRS	MFSR	MFPA	MSRS	MSSR	MSPA
g.....					
30F53	23,68*	54,29*	45,31*	1,51 ^{ns}	3,98 ^{ns}	5,85*
32R48	19,20	46,47	50,86	1,48	4,09	6,69
C.V. (%)	12,78	8,66	11,60	9,95	6,96	17,46

^{ns}, *; não significativo e significativo, a 5 % de probabilidade, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

As plantas dos dois híbridos de milho aumentaram o valor de pH das soluções nutritivas em cerca de 0,6 unidades, embora esse foi ajustado diariamente (Tabela 3). Esse efeito era esperado, uma vez que a solução nutritiva utilizada continha concentrações elevadas de

íons de sulfato e de nitrato, em relação a outros ânions essenciais. Sabe-se que, durante a redução assimilatória desses íons, ocorre produção de quantidade equivalente de OH^- e que esse pode ser excretado à solução nutritiva, nessa forma ou como HCO_3^- , dependendo do balanço de íons na planta (GALVANI, 1981). Entretanto, com o acréscimo da atividade de Al, os aumentos do valor de pH tenderam a diminuir. Isso foi verificado ao longo do período em que a solução nutritiva não era trocada (uma semana). Esse efeito poderia estar relacionado com a maior síntese e excreção de ácidos orgânicos pela raiz, em função dos teores tóxicos de Al em solução. Isto faria com que parte da acidez derivada desses ácidos fosse utilizada para neutralizar parte do OH^- produzido pelas raízes, devido a redução assimilatória do NO_3^- e do SO_4^{2+} (GALVANI, 1981). Por outro lado, como o valor do pK do ácido málico é cerca de 3,4, essa explicação é pouco plausível, pois nos valores de pH do citosol das plantas (pH = 7,67) (TAIZ e ZEIGER, 2004), esses compostos orgânicos predominam na forma de sal (citrato, malato, etc; e não como ácidos cítrico, málico, etc). Como mencionado anteriormente, o acréscimo da atividade de Al reduziu o sistema radicular e a parte aérea das plantas. Assim, a biomassa das plantas cultivadas nas soluções contendo maior teor de Al foi menor que as obtidas nas plantas dos tratamentos com menores atividades de Al ou na testemunha e, conseqüentemente, também foi menor a quantidade absorvida de nutrientes, entre eles o nitrato (que representa cerca de 70 % do total de ânions absorvidos pelas plantas) (MARSCHNER, 2002). Essa menor absorção de nitrato, além de outros ânions, deve explicar a menor alcalinização da rizosfera, observada nos tratamentos com os maiores teores de Al em solução.

Tabela 3. Valores de pH da solução nutritiva em função da atividade de alumínio e da semana de cultivo. Média dos híbridos 30F53 e 32R48 e dos dias de avaliação (Passo Fundo-RS, 2009)¹

Atividade de Al ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Semana I	Semana II	Semana III
	pH		
0,00	4,48 ^{ns}	4,92 a	5,38 ^{ns}
0,50	4,44	4,80 b	5,35
0,75	4,45	4,72 bc	5,21
1,00	4,46	4,68 c	4,45
1,25	4,44	4,63 c	5,02
1,50	4,49	4,69 bc	5,03
C.V. (%)	0,96	1,49	14,58
Média	4,46	4,74	5,07

¹ Médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade do erro. ns: não significativo. C.V.: coeficiente de variação.

4.3 Comprimento de raiz seminal, diâmetro do colmo e número de raízes secundárias

Sabe-se que a toxicidade do Al causa o aumento do diâmetro das raízes, o que compensa a menor quantidade de massa das mesmas. Assim, Paterniani e Furlani (2002) consideram que um dos melhores atributos vegetal, para avaliar a tolerância ao Al, tem sido o crescimento da raiz seminal de plântulas cultivadas em solução nutritiva, sendo a massa seca desse tipo de raiz ou do sistema radicular de importância secundária.

Não houve efeito da interação entre o acúmulo da atividade de Al e o tipo de híbrido no comprimento de raiz seminal (CRS), diâmetro do colmo (DC) e número de raízes secundárias (NRS) (Apêndice 3).

Por outro lado, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o CRS foi inibido pela adição de Al à solução nutritiva, quando esse fator foi avaliado de forma isolada. Essa variável diminuiu, de forma linear ($r^2 = 0,78$; $p < 0,001$), com o aumento das atividades desse cátion em solução (Figura 8). A equação ajustada com os resultados ilustrados nessa figura ($CRS = 36,05 - 0,23 Al$) estima que essa variável decresce 0,23 g com o acréscimo de $1,0 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, na solução de cultivo utilizada. Na atividade de $29 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ houve a maior redução do CRS, sendo o valor dessa variável cerca de 21 % menor em relação a testemunha. Esses resultados concordam com os relatados em Almeida et al. (2000). Segundo esses autores, o comprimento médio das raízes foi inibido pela presença do Al, na maioria dos genótipos do capim *Panicum maximum*. Petreire et al. (2007) também observaram que diferentes concentrações de Al provocaram restrição do crescimento da raiz seminal, em plântulas de soja e de milho, cultivadas por 48 horas, em solução contendo $2,5 \text{ mmol Ca L}^{-1}$. Esse tipo de efeito também é relatado por Silva (1988), em trabalho efetuado com a cultura de sorgo. Resultados semelhantes a esses foram, também, obtidos por Mazzocato et al. (2002), em pesquisa com dois híbridos de milho. Da mesma forma, os resultados são semelhantes ao relatado por Pinto (2002), que observou redução de 80 % no CRS em milho em relação ao tratamento sem Al, em solução contendo atividade de $3,9 \mu\text{mol de Al L}^{-1}$.

Em trabalho com híbridos de milho, Anjos (2007) observou que o comprimento da raiz seminal decresceu com o acréscimo da concentração de Al. O decréscimo foi maior nas concentrações mais altas desse cátion e à medida que a concentração deste elemento foi se elevando ele se tornou cada vez menor, até ser insignificante nas concentrações entre 100 e 200 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$. Conforme este autor, concentrações de Al maiores que 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ não aumentam o efeito da redução do CRS, sendo isso observado no período de 24 horas.

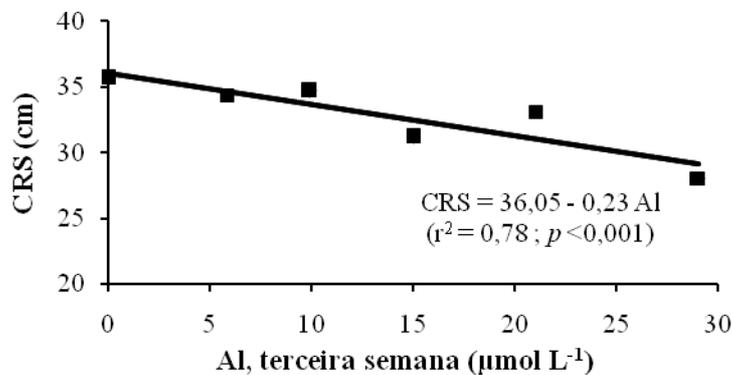


Figura 8. Comprimento de raiz seminal (CRS) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio. Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Os resultados ilustrados na Figura 8 mostram que as menores atividades de Al (5,81 e 9,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$) não afetaram o CRS. Isso pode estar relacionado a algum mecanismo de tolerância das plantas de milho à baixa atividade do Al e está de acordo com o relatado por Szymanska e Molas (1996) e Howerler e Cadavid (1976). Esses autores observaram que concentrações de 0,12 a 0,5 mmol Al L^{-1}

podem estimular o crescimento inicial de melão. Já Howerler e Cadavid (1976) sugerem que uma pequena quantidade de Al é necessária para o crescimento normal da planta. Em trabalho com a cultura do arroz, esses autores observaram que baixas concentrações de Al estimulam a atividade da esterase, possibilitando uma melhor utilização de P, com reflexos positivos no crescimento das plantas.

Ao contrário do observado no CRS, o número de raízes secundárias não variou entre as diferentes atividades de Al. No entanto, relatos de literatura mostram que, geralmente, ocorre o contrário em cafeeiro (BRACCINI et al. 1998); em aveia (FLOSS, 1992); em milho (PINTRO, 2002); entre outros.

O efeito do Al no número de raízes secundárias tem sido relacionado à destruição das células da região meristemática da raiz seminal, o que altera a produção de hormônios que controlam o crescimento de raízes secundárias. Segundo Rengel (1992), este cátion promove a redução da síntese e do transporte de citocininas nos meristemas da raiz, altera a direção do movimento de auxinas, favorecendo o transporte acrópeto ao invés do basípeto, e aumenta os níveis de ácido abscísico.

A quantidade de raízes é uma variável importante para caracterizar a qualidade do sistema radicular, pois possibilita as plantas explorarem maior volume de solo e, conseqüentemente, absorverem mais ou menos nutrientes e água (CANTÃO, 2007). No presente trabalho, a quantidade de raízes secundárias não foi afetada pelas diferentes atividades de Al, mas houve diferenças na quantidade de massa fresca e massa seca da raiz seminal e do sistema radicular, além do comprimento da raiz seminal (Figuras 4, 6 e 8), o que pode ter comprometido o crescimento das plantas (Figuras 5 e 7). Cantão

(2007) observou que a capacidade do sistema radicular de milho em absorver água e nutrientes não tem relação direta com o aumento do comprimento ou da área de superfície de raiz, desde que novas raízes, com alta capacidade de absorção, estão sendo produzidas, já que raízes mais velhas tornam-se menos permeáveis. De acordo com este autor, as modificações anatômicas que ocorrem durante a maturidade dos tecidos, por suberização, cutinização, formação de tecidos secundários, entre outros, determinarão o padrão de absorção pelas partes mais velhas da raiz.

Os valores do DC das plantas de milho, em ambos os híbridos, reduziram de forma linear ($p < 0,001$), em função do acréscimo de Al (Figura 9). Essa redução está coerente com a redução da massa fresca e massa seca da parte aérea, observada com o acréscimo desse cátion na solução nutritiva (Figuras 5 e 7). A equação ajustada com os resultados ilustrados na figura 9 ($DC = 8,20 - 0,05 Al$) estima que essa variável reduz 0,05 g com o acréscimo de $1,0 \mu\text{mol Al L}^{-1}$, quando os híbridos de milho utilizados são cultivados na solução testada.

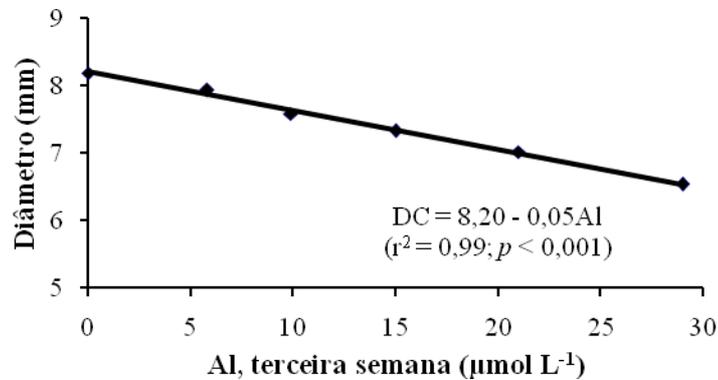


Figura 9. Diâmetro do colmo (DC) de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Com relação ao comprimento da raiz seminal, ao diâmetro de colmo e ao número de raízes secundárias, o híbrido que teve maior valor dessas variáveis foi o 30F53. Nesse híbrido, estes valores foram de 35,17 cm; 7,88 mm e 11,85, respectivamente, enquanto que no híbrido 32R48 foram de 30,55 cm; 7,58 mm e 10,70, respectivamente (Tabela 4). Conforme Petrere (2002), a adição de $0,025 \text{ mmol Al L}^{-1}$, em solução com $2,00 \text{ mmol Ca L}^{-1}$, reduziu em 42 % o crescimento das raízes seminal do híbrido P3069; e em 52 %, do híbrido P3072, de milho, em relação a testemunha. Esse efeito aumentou com a adição de $0,050 \text{ mmol Al L}^{-1}$, para 66 e 65 %, respectivamente, nestes híbridos. Ma et al. (1997) observaram que $0,02 \text{ mmol Al L}^{-1}$ reduziu em 67 % o crescimento de raízes de milho, cultivado em solução contendo $0,10 \text{ mmol Ca L}^{-1}$, ou seja, vinte vezes menor do que a utilizada no trabalho de Petrere (2002).

Os maiores valores do CRS e do NRS, obtidos no híbrido 30F53, estão coerentes com os maiores valores de massa fresca e de massa seca da raiz seminal e do sistema radicular (Tabela 2). Essas diferenças se devem aos maiores valores obtidos para estas variáveis no tratamento sem Al (testemunha), ou seja, o híbrido 30F53 por razões genéticas produz maior biomassa de raiz que o 32R48. Isso pode ser explicado pelas características agronômicas dos híbridos, como a diferença de vigor e de ciclo, variabilidade genética e não a tolerância ao Al.

Tabela 4. Comprimento de raiz seminal (CRS), diâmetro de colmo (DC) e número de raízes secundárias (NRS) de dois híbridos de milho cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio. Média das atividades testadas (Passo Fundo-RS, 2009)

Híbrido	CRS	DC	NRS
cm....mm....	
30F53	35,17*	7,28*	11,85*
32R48	30,55	7,58	10,70
C.V. (%)	8,38	4,87	5,97

*: significativo a 5 % de probabilidade. C.V. = coeficiente de variação.

Já o maior valor de DC, observado no híbrido 30F53, não teve relação com os resultados de massa fresca e de massa seca da parte aérea, pois os valores dessas variáveis foram menores nesse híbrido (Tabela 4).

4.4 Ácidos orgânicos

A eluição completa da alíquota utilizada para a determinação dos ácidos orgânicos, na coluna do cromatógrafo, ocorreu em 25 minutos e, a exemplo de Menosso et al. (2001), observou-se um “pico” inicial do solvente no tempo de retenção de três minutos. Esse “pico” foi identificado como sendo de um composto não-polar, que não interfere na determinação dos ácidos orgânicos analisados.

Os “picos” dos três ácidos orgânicos analisados (cítrico, láctico e málico) obtidos nos cromatogramas, foram de boa resolução. Esses foram identificados nos seguintes tempos de retenção na coluna cromatográfica: ácido málico, aos 5,4 min; ácido láctico, aos 6,2 min; e ácido cítrico, aos 12,2 min (Apêndice 4).

Entre os três ácidos orgânicos analisados, somente as concentrações do ácido málico aumentaram, nos dois tipos de raízes, em função das atividades de Al testadas (Figuras 10 e 11). A concentração desse ácido na raiz adventícia, ou na raiz fasciculada não variou com a interação entre a atividade de Al e os tipos de híbridos (Apêndice 5).

Os ácidos orgânicos analisados não foram detectados na solução nutritiva. Não foi observada produção significativa de ácido málico na segunda folha dos dois híbridos de milho. Isto, provavelmente, se deve ao Al não ter sido translocado em quantidades significativas para a parte aérea, pois os teores de Al nessa parte dos híbridos não foram detectados. Segundo Goedert et al. (1997), a translocação do Al é baixa para o topo da planta. Várias cultivares tolerantes acumulam Al na raiz e translocam esse cátion para a parte aérea numa menor taxa do que as cultivares sensíveis.

Entre os mecanismos de exclusão de Al, a redução da atividade desse cátion em pontas de raízes inclui a exsudação de ácidos orgânicos, de baixo peso molecular, que formam complexos estáveis com o Al. Há fortes evidências de que esse estímulo do Al é específico, não sendo verificado com outros íons, pois esse mecanismo passa pelo canal aniônico da membrana plasmática (MEDA e FURLANI, 2005).

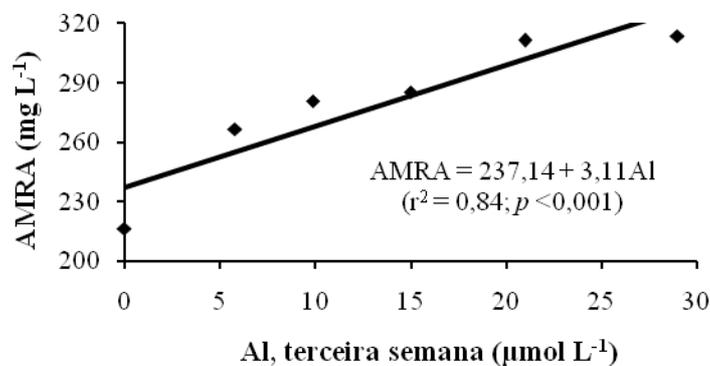


Figura 10. Concentração de ácido málico da raiz adventícia (AMRA) de milho, cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

A produção de ácido málico na raiz adventícia aumentou de forma linear ($r^2 = 0,84$; $p < 0,001$) com o aumento da atividade de Al (Figura 10). Nas atividades de 0,00; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$, os teores de ácido málico, nesse tipo de raiz, foram de 216, 266, 280, 285, 311 e 313 mg L^{-1} , respectivamente. A equação ajustada com os resultados ilustrados na figura 10 ($\text{AMRA} = 237,14 + 3,11 \text{ Al}$)

estima que o valor dessa variável aumenta $3,11 \text{ mg L}^{-1}$, com o acréscimo de $1,0 \text{ } \mu\text{mol Al L}^{-1}$ na solução.

Da mesma forma que observado com a raiz adventícia, a produção de AMRF aumentou de forma linear, em função do acréscimo da atividade de Al na solução (Figura 11). Foram obtidos 177, 183, 233, 236, 244 e 258 mg L^{-1} de ácido málico na raiz fasciculada, nas atividades de 0,00; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 Al L^{-1} , respectivamente. A equação ajustada com os resultados ilustrados na figura 11 ($\text{AMRF} = 187,72 + 2,70 \text{ Al}$) estima que essa variável aumentou $2,70 \text{ mg L}^{-1}$, com o acréscimo de $1,0 \text{ } \mu\text{mol Al L}^{-1}$, na solução.

Na média das atividades de Al testadas, e comparando a produção de ácido málico obtida nos dois tipos de raiz, observa-se que as raízes adventícias produziram maior quantidade desse ácido, que as raízes fasciculadas. Isso pode ser explicado pelo ajuste da concentração de sais e de Al da solução nutritiva (50, 75 e 100 % da concentração total), sendo esses percentuais referentes à primeira, segunda e terceira semana de cultivo, respectivamente. Os menores teores de sais e de Al possibilitaram maior crescimento das raízes fasciculadas, na primeira e na segunda semana. As raízes adventícias foram emitidas no final da segunda e na terceira semana, quando a concentração de sais e de Al da solução nutritiva correspondia a 100 % do total. Essa condição também está relacionada com os maiores danos das raízes adventícias observado visualmente (Figura 3).

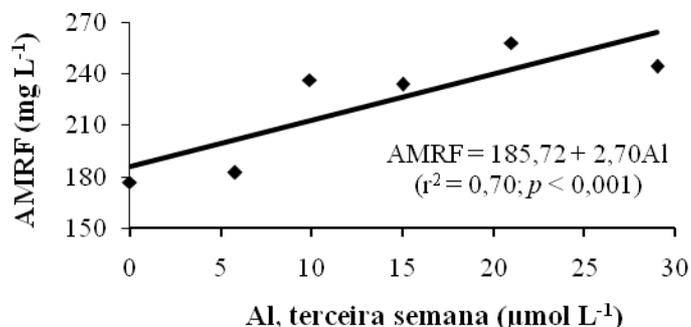


Figura 11. Concentração de ácido málico da raiz fasciculada (AMRF) de milho, cultivado por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

A concentração de ácido málico obtida na raiz adventícia e na raiz fasciculada diferiu entre os dois híbridos de milho (Tabela 5). Na média das atividades de Al testadas, os resultados dessa tabela indicam que o híbrido 30F53 produziu maior quantidade de ácido málico, em ambas as raízes estudadas. O teor de ácido málico nesse híbrido foi cerca de 20 % maior que o obtido nos dois tipos de raízes do híbrido 32R48. Os valores de massa fresca e de massa seca das raízes também foram maiores no híbrido 30F53 (Figuras 4 e 6). No entanto, este híbrido, por razões genéticas, produziu maior quantidade de biomassa radicular no tratamento sem Al, como discutido anteriormente.

Para melhor comparar o efeito do Al na produção de ácido málico dos dois híbridos avaliados, a concentração obtida desse composto nos tratamentos testados foi subtraída da obtida na testemunha, utilizando os valores estimados com a equação de

regressão ilustrada na figura 11. Desta forma constata-se que, na maior atividade de Al testada ($29\mu\text{mol L}^{-1}$), o percentual de aumento do AMRF foi de 21,5 % no 30F53, contra 83,5 % no 32R48, indicando que esse último tem maior capacidade de produzir ácido málico. Já o percentual de aumento do AMRA foi de 36,4 e 40,0 %, no 30F53 e 32R48, respectivamente, indicando que a produção desse composto não diferiu na raiz adventícia entre os híbridos testados. Isso mostra que o maior crescimento das raízes do híbrido 30F53 foi proporcionado pela maior produção de biomassa do tratamento sem Al e não pela maior produção de ácido málico nessa parte da planta. Por outro lado, o maior percentual de aumento de AMRF, em relação a testemunha, observado no híbrido 32r48 indicou que esse híbrido teve maior capacidade em produzir ácido málico, como resposta a maior atividade de Al testada. Esta característica indica que este híbrido tem maior tolerância ao Al, pois relação positiva entre o acúmulo de ácidos orgânicos nas plantas e a capacidade dessas em tolerar a toxicidade de Al tem sido relatado (FOY, 1964; MENOSSO et al., 2000; PIÑEROS et al., 2005; YU et al., 2008; SUÁREZ et al., 2008). Para Foy (1964), esse acúmulo de ácido málico em plantas tolerantes ao Al, provavelmente, está ligado à inibição da enzima málica por esse cátion.

Tabela 5. Concentrações de ácido málico na raiz adventícia (AMRA) e na raiz fasciculada (AMRF) de dois híbridos de milho cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio. Média das atividades de alumínio. (Passo Fundo-RS, 2009)

Híbrido	AMRA	AMRF
mg L ⁻¹	
30F53	304,40*	239,91*
32R48	253,73	204,19
C.V. (%)	18,44	25,69

*: Diferenças entre médias na coluna, significativa a 5 % de probabilidade de erro. C.V. = coeficiente de variação.

4.5 Teor de alumínio na planta

O teor de Al nas plantas não variou com a interação entre a atividade de Al e os tipos de híbridos (Apêndice 6). No sistema radicular, o teor deste cátion aumentou de forma linear, em função do acréscimo da atividade de Al em solução (Figura 12). Foram obtidos 0,0087, 0,1400, 0,1375, 0,1975, 0,1925 e 0,2162 mg Al kg⁻¹ nas raízes, com as atividades de 0,00; 5,81; 9,9; 15; 21 e 29 μmol Al L⁻¹, na solução de cultivo, respectivamente. A equação ajustada com os resultados ilustrados na figura 12 (Al = 0,066 + 0,006x) estima que essa variável aumenta 0,006 mg kg⁻¹, com o acréscimo de 1,0 μmol Al L⁻¹ na solução.

O aumento linear da concentração de ácido málico nas raízes (Figuras 10 e 11) coincidiu com o aumento linear do teor de Al observado nos dois tipos de raízes (Figura 12). Isso indica que as plantas apresentam mecanismos de tolerância ao Al, relacionados com a produção de ácidos orgânicos, nas raízes.

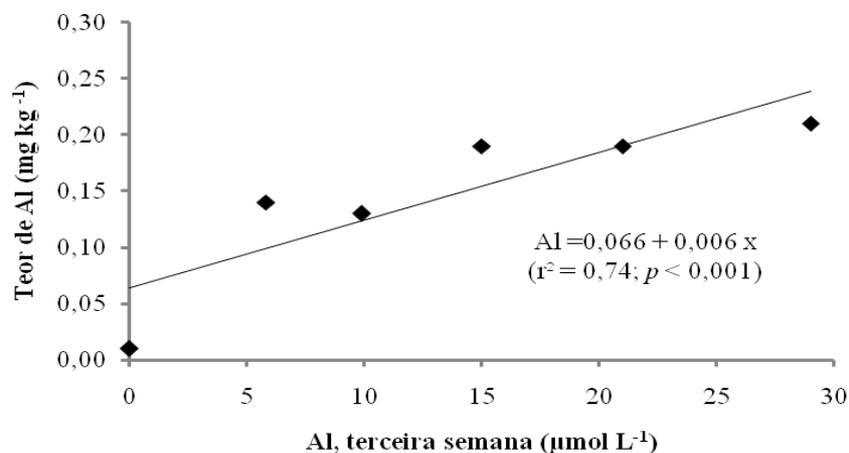


Figura 12. Teor de alumínio (Al) no sistema radicular de milho, cultivado, por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio (Al). Média dos híbridos 30F53 e 32R48 (Passo Fundo-RS, 2009).

Na média das atividades de Al testadas, o teor de Al obtido no sistema radicular não diferiu entre os dois híbridos de milho. Isso está relacionado com o maior crescimento das raízes do híbrido 30F53, incluindo o tratamento sem Al (Tabela 4). Assim, esse maior crescimento diluiu o teor de Al na massa seca das raízes deste híbrido (Tabela 5).

Por outro lado, os percentuais de aumento de Al nas raízes do tratamento com maior atividade de Al ($29 \mu\text{mol L}^{-1}$), em relação ao obtido na testemunha, foram de 356 e de 221,4 % (30F53) e de 196 e de 152 % (32R48), com base em teor e em quantidade, respectivamente. Estes resultados indicam que o híbrido 30F53 acumulou maior teor e quantidade de Al nas raízes, em resposta ao tratamento com maior atividade de Al, sendo isso observado em todos

os níveis de Al testados. Como o percentual de acúmulo de AMRF, deste híbrido, foi menor que o observado no híbrido 32R48 e não houve diferença entre o acúmulo desse composto na raiz adventícia, estes resultados indicam que este último híbrido tem maior capacidade de tolerar ao Al, pois produz maior teor de ácido málico e acumula menor Al, em relação ao 30F53.

O acúmulo de Al observado no híbrido 32R48 não foi suficiente para fazer com que as diferenças genéticas fossem supridas, em relação ao 30F53, como indicado por Barceló e Poschenrieder (2002). Conforme esses autores, o Al, em atividades elevadas, causam danos severos à estrutura e à função da membrana plasmática e de outras membranas celulares, com perda da compartimentalização celular, fazendo com que as diferenças genotípicas desapareçam.

Já na parte aérea dos híbridos, o Al não foi detectado, em todos os tratamentos testados.

Assim como o constatado com o percentual de acúmulo do AMRF e de Al nas raízes, observou-se que o híbrido 32R48 foi mais tolerante a toxicidade deste cátion, ao se comparar a atividade crítica de Al estimada para reduzir em 10 % o valor das variáveis de crescimento avaliadas no trabalho (Tabela 6). Como mostram os resultados dessa tabela, exceto a MFSR, que foi semelhante, e da MFPA e do DC, os valores das demais variáveis avaliadas reduziram 10 % com a maior atividade de Al no híbrido 32R48, em relação ao 30F53. Além disto, os resultados da tabela 6 indicam que a MF e a MS da parte aérea formam as variáveis de crescimento que decresceram 10 % do valor obtido na testemunha com a menor atividade de Al em solução, sendo essa atividade cerca de 50 % maior

no 32R48. Possivelmente, isto se deve aos efeitos do Al nas raízes das plantas, o que comprometeu a parte aérea.

Tabela 6. Atividade crítica de toxicidade de alumínio em dois híbridos de milho, cultivados em solução nutritiva (Passo Fundo-RS, 2009)¹

Variáveis	30F53	32R48
 $\mu\text{mol Al L}^{-1}$	
MFRS	14,72	17,79
MFSR	13,63	12,34
MFPA	6,40	3,63
MSRS	12,93	21,71
MSSR	14,20	14,80
MSPA	5,80	9,41
CRS	11,80	20,86
DC	19,32	11,42

¹ atividade de Al em solução estimada para inibir 10 % do atributo de crescimento avaliado. MFRS: massa fresca da raiz seminal, MFSR: massa fresca do sistema radicular, MFPA: massa fresca da parte aérea, MSRS: massa seca da raiz seminal, MSSR: massa seca do sistema radicular, MSPA: massa seca da parte aérea, CRS: comprimento da raiz seminal e DC: diâmetro de colmo.

7 CONCLUSÕES

Na média dos híbridos, o acréscimo da atividade de Al na solução nutritiva, em geral, reduziu a parte aérea e as raízes das plantas. Esse efeito foi mais acentuado com a maior atividade de Al ($29 \mu\text{mol L}^{-1}$), sendo menos expressivo o dano do sistema radicular com as atividades estimadas em valores menores que $12 \mu\text{mol Al L}^{-1}$. Em ambos os híbridos avaliados, a massa fresca e seca da raiz seminal, do sistema radicular e da parte aérea, o comprimento da raiz seminal e o diâmetro de colmo decresceram com a atividade de Al em solução, sendo as variáveis da biomassa da parte aérea mais influenciada pela toxicidade do Al.

O híbrido 32R48 foi mais tolerante ao Al que o híbrido 30F53. Essa maior tolerância está relacionada à concentração de ácido málico nas raízes fasciculadas desse híbrido, a qual aumenta com a atividade do Al na solução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, F.; HATHCOCK, P.J. Aluminum toxicity and calcium deficiency in acid subsoil horizons of two coastal plains soil series. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 48, p.1305-1309, 1984.

ALMEIDA, A.A.S.; MONTEIRO, F.A.; JANK, L. Avaliação de *Panicum maximum* Jacq. para tolerância ao alumínio em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 24, p. 339-344, 2000.

ALAM, S.M.; ADAMS, W.A. Effects of aluminum on nutrient composition and yield of oats. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 1, n. 4, p. 365-375, 1979.

ÁLVAREZ, E.; FERNÁNDEZ- MARCOS, M.L.; MONTERROSO, C.; FERNÁNDEZ-SANJURJO, M.J. Application of aluminum toxicity indices to soils under various forest species. *Forest Ecology and Management*, Joensuu, v. 211, p. 227-239, 2005.

ALVES, V.M.C.; PITTA, G.V.E.; PARENTONI, S.N.; SCHAFFERT, R. E.; COELHO, A. M.; MAGALHÃES, J. V. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 311-318, 2004.

ANDRADE, F.V.; MENDONÇA, E.S.; ALVAREZ, V.V.H.; NOVAIS, R.F. Adição de ácidos orgânicos e húmicos em Latossolos e adsorção de fosfato. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 27, p. 1003-1011, 2003.

ANDRADE JUNIOR, V. C.; MOTA, J. H.; CASTRO, N. E. A. Avaliação da tolerância a alumínio de dois genótipos de sorgo. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*, Garça, n.07, p.1-9, 2005.

ANJOS, O.F. *Exsudação de ácido málico e alongamento radicular em genótipos de milho tratados com níveis tóxicos de alumínio*. 2007, 50f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

ASKERLUND, P. Calmodulin-stimulated Ca^{2+} -ATPases in the vacuolar and plasma membranes in cauliflower. *Plant Physiology*, Palo Alto, v. 114, p. 999-1007, 1997.

ARCHAMBAULT, D.J.; ZHANG, G.; TAYLOR, G.J. Accumulation of Al in root mucilage of an Al-resistant and an Al-sensitive cultivar of wheat. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 112, p.1471-1478, 1996.

BALIGAR, V.C.; SCHAFFERT, R.E.; SANTOS, H.L.; PITTA, G.V.E.; BAHIA FILHO, A.F.C. Soil aluminum effects on uptake, influx, and transport of nutrients in sorghum genotypes, *Plant and Soil*, Dordrecht, v, 150, p. 271-277, 1993.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany*, Amsterdam, v. 48, n.1, p. 75-92, 2002.

BENINNI, E.R.Y.; TAKAHASHI, H.W.; NEVES, C.S.V.J. Manejo do cálcio em alface de cultivo hidropônico. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 4, 2003.

BLAMEY, F.P C.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J. Effects of aluminum, OH: Al and P: Al molar ratios, and ionic strength on soybean root elongation in solution culture. *Soil Science*, Rutgers, v. 136, p. 197-207, 1983.

BOHNEM, H.; SILVA, L.S.; MACEDO, V.R.M.; MARCOLIN, E. Ácidos orgânicos na solução de um Gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 29, p. 475-480, 2005.

BOSCOLO, P.R.S.; MENOSSI, M.; JORGE, R.A. Aluminum-induced oxidative stress in maize. *Phytochemistry*, Netherlands, v. 62, p. 181-189, 2003.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; SAMPAIO, N.F.; SILVA, E.A.M. Tolerância de genótipos de cafeeiro ao alumínio em solução nutritiva. I. Crescimento e desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 22, p. 435-442, 1998.

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.

CAMBRAIA, J. Mecanismos de tolerância à toxidez de alumínio em plantas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL 2. Piracicaba: 1989. *Anais*. Piracicaba, SBFV/ESALQ, 1989.

CAMBRI, M.A. *Calagem e formas de alumínio em três localidades sob sistema de plantio direto*, 2004, 95f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Faculdade de Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

CANÇADO, G.M.A.; PARENTONI, S.N.; BOREM, A.; LOPES, M.A. Avaliação de nove linhagens de milho em cruzamento dialélicos quanto à tolerância ao alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 4, p. 471-478, 2002.

CANTÃO, F.R. O. *Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio*, 2007, 98f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2007.

CHAFFAI, R.; MARZOUK, B.; EL FERJANI, E. Aluminum mediates compositional alterations of polar lipid classes in maize seedlings. *Phytochemistry*, Pergamon, n. 66, p. 1903-1912, 2005.

COMETTI, N.N.; FURLANI, P.R.; RUIZ, H A.; FERNANDES FILHO, E.I. Soluções nutritivas: formulações e aplicações. In: FERNANDES, M. S. (editor). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, 89-114 p.

CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S. *Herança da tolerância à toxicidade ao alumínio (Al^{3+}) em milho e identificação de regiões cromossômicas associadas ao caráter*. 2006, 98f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2006.

CRISTOFORO, A.; HE, J.Z.; ZHOU, D.H.; VIOLANTE, A. adsorption of phosphate and tartrate on hydroxy-aluminum-oxalate precipitates. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 64, p. 1347-1355, 2000.

CUSTÓDIO, C.C.; BOMFIM, D.C.; SATURNIMO, S.M.; NETO, N.B.M. Estresse por alumínio e por acidez em cultivares de soja. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 59, n. 1, p.145-153, 2002.

DIXON, R.A.; PAIVA, N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, Rockville, v. 7, n.7, p. 1085-1097, 1995.

ECHART, C.L.; CAVALI-MOLINA, S.C. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismos de tolerância e seu controle genético. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 3, 2001.

EVANS, N.H.; MCAINSH, M.R.; HETHERINGTON, A. Calcium oscillations in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, Oxford, n. 04, p. 415-420, 2001.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J. Aluminum toxicity in crop plants. *Journal Plant Nutrition*, Madison, v. 11, p. 303-319, 1988.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J. The effects of aluminum on growth and uptake of Al and P by Rice, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 24, p 677-682, 1989.

FÁVARO, S.P.; IDA, E.L. Textura de feijão–vagem (*Phaseolus vulgaris*. L.) processado ou não: efeito da aplicação de concentrações crescentes de cálcio via absorção radicular. *Ciências Tecnologia e Alimentos*, Campinas, v. 18, n. 2, 1998.

FERREIRA, R.P.; MOREIRA, A.; RASSINI, J.B. *Toxidez de alumínio em culturas anuais*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006. 35 p.

FLOSS, E.L. *Avaliação da toxicidade do alumínio em genótipos de aveia*, 1992, 296f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1992.

FORTUNATO, R.P.; NICOLOSO, F.T. Toxidez de alumínio em plântulas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 1, 2004.

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

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

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

FRANCHINI, J.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; TORRES, E.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, A. Organic composition of green manure during growth and its effect on cation mobilization in an acid Oxisol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 34, p. 2045-2058, 2003.

FREITAS, F.A.; KOPP, M.M.; SOUSA, R.O.; ZIMMER, P.D.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistema hidropônicos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 72-79, 2006.

FURLARI, P.R. Efeitos fisiológicos do alumínio em plantas. In: II SIMPÓSIO AVANÇADO DE SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. Piracicaba, SP. *Anais...* ESALQ/USP, p. 74-89. 1989.

GALVANI, F.R. *Produção de ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos e raízes de dois cultivares de sorgo (Sorghum bicolor, L. Moench), submetidas a diferentes níveis de alumínio*. 1981, 34f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1981.

GESTEL, C.A.M.V.; HOOGERWERF, G. Influence of soil pH on the toxicity of aluminum for *Eisenia andrei* (Oligochaeta: Lumbricidae) in an artificial soil substrate. *Pedobiologia*, n. 45, p. 385-395, 2001.

GOEDERT, W.J.; LOBATO, E.; LOURENÇO, S. Nutrient use efficiency in Brazilian acid soils: Nutrient management and plant efficiency. In: MONIZ, A.C.; FULANI, A.M.C.; SCHAFFERT, R.E.; FAGERIA, N.K.; ROSOLEM, C.A.; CANTARELLA; H. *Plant-soil*

interactions at low pH: Sustainable agriculture and forestry production. Brasília: SBCS, 1997, p. 97-104.

GUIMARÃES, C.M.; NEVES, P.C.F.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, F.J.P. Resistência do arroz de terras altas ao alumínio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.* Campina Grande, v. 10, n. 4, p. 855-860, 2006.

GUPPY, C.N.; MENZIES, N.W.; MOODY, P.W.; BLAMEY, F.P.C. Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: a review. *Australian Journal of Soil Research*, v. 43, p. 189-202, 2005.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; MAIA, L.C.; FONSECA, D.A.R.; REIS, C.E.S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.28, n. 2, p. 219-228, 2007.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D.I. *The water culture method for growing plants without soil.* Berkeley: University of California Agricultural Experiment Station. 1938. 34p. (Circular, 347).

HOWERLER, R.H., CADAVID, L.F. Screening of rice cultivars for tolerance to Al toxicity in nutrient solutions and compared with a Field screening method. *Agronomy Journal*, Madison, v. 68, n. 5, p. 551-555, 1976.

HUANG, J.W.; GRUNES, D.L.; KOCHIAN, L.V. Calcium fluxes in Al-tolerant and Al-sensitive wheat roots measured by Ca-selective microelectrodes. *Plant Physiology*, Rockvillee, v. 98, p.230-237, 1992.

HUE, N.V.; CRADDOCH, G.R.; ADAMS, F. Effects of organic acids an aluminum toxicity in subsoils. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 50, p. 28-34, 1986.

JANSEN, S.; BROADLEY, M.; ROBBRECHT, E. Aluminum hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *The Botanical Review*, Bronx, v. 68, n. 2, 2002.

JOHANSEN, C.; EDWARDS, D.G.; LONERAGAN, J.F. Interactions between potassium and calcium in their absorption by intact barley plants. II effects of calcium and potassium concentration on potassium absorption. *Plant Physiology*. Palo Alto, n. 43, p. 1722-1726, 1968.

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

JUSTINO, G.C.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; OLIVEIRA, J.A. Absorção e redução de nitrato em duas cultivares de arroz na presença de alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, n.8, p. 1285-1290, 2006.

KOCHIAN, L. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 46, p. 237-260, 1995.

LOYOLA JÚNIOR, E.; PAVAN, M.A. Seletividade de troca de cátions em solos ácidos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 13, p. 131-138, 1989.

LOPEZ-BUCIO, J.; NIETO-JACOBO, M.F.; RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, V.; HERRERA-ESTRELLA, L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science*, v. 160, p. 1-13, 2000.

MA, J.F.; SASAKI, M.; MATSUMOTO, H. Al-induced inhibition of root elongation in corn, *Zea mays* L. is overcome by Si addition. *Plant in Soil*, Dordrecht, v. 188, p.171-176, 1997.

MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Science*, London, v. 6, n. 6, p. 273-278, 2001.

MACHADO, P.L.O.A. *Considerações gerais sobre a toxicidade do alumínio nas plantas*. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997, 14 p.

MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006, 638 p.

MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 3 Ed., London: Academic Press, 2002, 890 p.

MARTINOLA, E.; RENTSCH, D. Malate compartmentation – responses to a complex metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.45, p. 447-467, 1994.

MATTIELO, E.M.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E.; MAURI, J.; MATIELO, J.D.; MEIRELES, P.G.; SILVA, I.R. Produção de matéria seca, crescimento radicular e absorção de cálcio, fósforo e alumínio por *Coffea canephora* e *Coffea arabica* sob influência da atividade do alumínio em solução. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, p. 425-434, 2008.

MAZZOCATO, A.C.; ROCHA, P.S.G.; SERENO, M.J.C.M.; BOHNEN, H.; GIONGO, V.; BARBOSA NETO, J.F. Tolerância ao alumínio em plântulas de milho. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n.1, p. 19-24, 2002.

MEDA, A.R.; FURLANI, P.R. Tolerance to aluminum toxicity by tropical leguminous plants used as cover crops. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 309- 317, 2005.

MELO, F.A.F.; BRASIL SOBRINHO, M.O.C.; ARZOLLZ, S.; SILVEIRA, R.I.; COBRA NETO, A.; KIEHL, J. C. *Fertilidade do Solo*. São Paulo: Nobel, 1983, 245p.

MENDONÇA, R.J.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; OLIVEIRA, J.A. Capacidade de cultivares de arroz de modificar o pH de soluções nutritivas na presença de alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, n. 5, p. 447-452, 2005.

MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGHINONI, I.; BOHNEN, H. Crescimento radicular e produção de ácidos orgânicos em cultivares de soja com diferentes tolerâncias ao alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 11, p.1339-1345, 2001.

MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGHINONI, I.; BOHNEN, H. Tolerância de genótipos de soja ao alumínio em solução. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 11, p.345-359, 2000.

MISTRO, J.C.; CAMARGO, C.E.O.; PETTINELLI-JUNIOR, A. Avaliação de genótipos de trigo, de diferentes origens, em relação à toxicidade de alumínio. *Bragantia*, Campinas, v. 60, p. 1-9, 2001.

MIYAZAWA, M.; CHIERICE, G.O.; PAVAN, M.A. Amenização da toxicidade de alumínio às raízes do trigo pela complexação com ácidos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 16, p. 209-215, 1992.

NOLLA, A.; ANGHINONI, I. Atividade e especiação química na solução afetadas pela adição de fósforo em Latossolo sob plantio direto em diferentes condições de acidez. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 30, p. 955-963, 2006.

PATERNIANI, M.E.G.Z.; FURLANI, P.R. Tolerância à toxicidade de alumínio de linhagens e híbridos de milho em solução nutritiva. *Bragantia*, Campinas, v. 61, n. 01, 2002.

PAVAN, M.A.; BINGHAM, F.T.; PRATT, P.T.; Toxicity of aluminum to coffee (*Coffea Arabica* L.) in Ultisols and Oxisols amended with amended with CaCO_3 , MgCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 46, p. 1201-1207, 1982.

PAVINATO, P.S.; ROSOLEM, C.A. Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, p. 911-920, 2008.

PEDROTTI, A.; FERREIRA, M.M.; CURI, N.; SILVA, M.L.N.; LIMA, J.M.; CARVALHO, R. Relação entre atributos físicos, mineralogia da fração argila e formas de alumínio no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 27, p. 1-9, 2003.

PEIXOTO, P.H.P.; PIMENTA, D.S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio. *Bragantia*, Campinas, v. 66, n. 1, p. 17-25, 2007.

PETERSEN, W. BÖTTGER, M. Contribution of organic acids to the acidification of rhizosphere of maize seedlings. *Plant and Soil*, Netherlands, v. 132, p. 159-163, 1991.

PETREIRE, V.G. *Características químicas da solução de solo no sistema plantio direto e relação entre alumínio e silício em genótipos de milho*. 2002. 87f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2002.

PETREIRE, V.G.; TECHIO, J.W.; BRESSA, F.L.; CUNHA, T.J.F.; BRAGA, M.B. Estudos de toxidez de alumínio em genótipos de soja e milho cultivados e bioensaios. In.: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA DO SOLO: Conquistas e desafios da ciência do solo brasileira, Gramado, RS. *Anais...*, SBCS: Viçosa, p. 89- 94, 2007.

PIÑEROS, M.A.; SHAFF, J.E.; MANSLANK, H.S.; ALVES, V.M.C.; KOCHIAN, L. Aluminum resistance in maize cannot be solely explained by root organic acid exudation. A comparative physiological study. *Plant Physiology*, Palo Alto, v. 137, p. 231-241, 2005.

PINTRO, J.C. Efeitos da toxicidade de duas espécies químicas de alumínio sobre o crescimento de plantas de milho cultivadas em solução nutritiva. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1219-1222, 2002.

PIRES, A.M.M. *Ácidos orgânicos da rizosfera: aspectos qualitativos e quantitativos e fitodisponibilidade de metais pesados originários de biossólidos*. 2003. 106f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2003.

POOVAIAH, B.W. Role of calcium and calmodulin in plant growth and development. *HortScience*, Alexandria, v. 20, n. 3, 1985.

RAIJ, B. Van. *Fertilidade do solo e adubação*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1991, 343p.

RAPOSEIRAS, R.; SOUZA, I.R.P.; ALVES, V.M.C.; PRATES, H.T.; MAGALHÃES, P.C.; SCHAFFTER, R.E. Teores de fenólicos em raiz de milho sob toxidez de alumínio. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 374-380, 2005.

RENGEL, Z. Competitive Al^{3+} inhibition of net Mg^{2+} uptake by intact *Lolium multiflorum* roots. *Plant Physiology*, Palo Alto, n. 93, p. 1261-1267, 1990.

RENGEL, Z. Role of calcium in aluminum toxicity, *New Phytology*, Cambridge, v. 121, p. 499-513, 1992.

RENGEL, Z.; REID, R. Uptake of Al across the plasma membrane of plant cells. *Plant and Soil*, Netherlands, v. 192, p 31-35, 1997.

RAMOS, F.T.; ROSSIELLO, R.O.P.; LAMAS, M.E.; MARCIANO, D.P.R.O.; FAÇANHA, A.R. Fosfolipídios em membranas de raízes de arroz são alterados diferencialmente por estresse por alumínio. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p. 117-119, 2007.

ROSSIELLO, R.O.; JACOB NETTO, J. Toxidez de alumínio em plantas: novos enfoques para um velho problema. In: FERNANDES, M. S. (editor). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p. 375-418.

SALET, R.L. *Toxidez de alumínio no sistema plantio direto*. 1998. 117f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1998.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; PUCCI, A.L.R.; STRIEDER, M.; ZANIN, C.G.; SILVA, L.C.; VIEIRA, R.J. A aplicação precoce de nitrogênio em cobertura não aumenta o rendimento de grãos do trigo cultivado na presença de alumínio. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n.4, 2008.

SANTOS, C.H.; GRASSI FILHO, H., RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. Níveis de alumínio e acúmulo de macronutrientes em porta-enxertos cítricos em cultivo hidropônico. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 56, n. 4, supl., 1999.

SANTOS, C.H. *Influência de diferentes níveis de alumínio no desenvolvimento de dois porta-enxertos cítricos em cultivo hidropônico*. 96f, 1998. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP 1998.

SASAKI, M.; YAMAMOTO, Y.; MATSUMOTO, H. Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.96, n. 2, p. 193-198, 1996.

SAWAZAKI, E.; FURLANI, P.R. Genética da tolerância ao alumínio em milho cateto. *Bragantia*, Campinas, v. 46, n. 2, p. 269-278, 1987.

SCHEFFER-BASSO, S.M.; DALL'AGNOL, M.; CAETANO, J.H.S.; JACQUES, A.V.A. Crescimento de plântulas de *Adesmia* ssp. submetidas a doses de alumínio em solução nutritiva. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 217-222, 2000.

SCHLINDWEIN, J.A.; NOLLA, A.; ANGHINONI, I.; MEURER, E.J. Redução da toxidez de alumínio em raízes de soja por culturas antecessoras no sistema plantio direto. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v. 9, n. 1, p. 85-88, 2003.

SILVA, M.A. *Estabelecimento de método simples para seleção de cultivares de sorgo quanto á tolerância ao alumínio em solução nutritiva*. 1988, 71f. Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.

SILVA, F.A.M.; NOGUEIRA, F.D.; CGUIMARÃES, P.T.G.; GIDINHO, A.; MALTA, M.R. Determinação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular na rizosfera de cafeeiro por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Ciências Agrotécnica*, Lavras. Edição Especial, p.1391-1395, 2002.

SLATTERY, W.J; MORRISON, G.R. Relationship between soil solution aluminium and low molecular weight organic acids in a conservation cropping system. *Plant and Soil*, Dordrecht, n. 171, p. 193-197, 1995.

SOBRAL, A.F.; GUIMARÃES, V.O.S. Relação entre a toxidez do alumínio e a produção de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, n. 27, v. 2, p. 287-292, fev. 1992.

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

STAB, A.; HORST, W.J. Effect of aluminium on membrane properties of soybean (*Glycine max*) cells in suspension culture. *Plant and Soil*, Netherlands, v. 171, p. 113-118, 1995.

SUÁREZ, M.H.; RODRÍGUEZ, E.R.; ROMERO, C.D. Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife. *European Food Research and Technology*, Verlag, v. 226, p. 423-435, 2008.

SULAIMAN, H.; SASAKI, O.; SHIMOTASHIRO, T.; CHISHAKI, N.; INANAGA, S. Effect of calcium concentration on the shape of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) tuberous root. *Plant Production Science*, Libraries, v. 7, n. 2, p. 191-194. 2004.

SZYMANSKA, M.; MOLAS, J. The effect of aluminum on early development stages of *Cucumis sativus* L. *Folia. Horticulturae*, v. 8, p. 73-83, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.

TAHARA, K.; NORISADA, M.; YAMANOSHITA, T.; KOJIMA, K. Role of aluminum-binding ligands in aluminum resistance of *Eucalyptus camaldulensis* and *Melaleuca cajuputi*. *Plant and Soil*, Netherlands, v. 302, p. 175-187, 2008.

TAKACHI, C.Y.; PAVAN, M.A. Efeito da natureza e da força iônica do cátion na acidez da solução do solo. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, Campinas, v. 19, p. 15-18, 1995.

TAYLOR, G.J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. *Communication in Soil Science Plant Analysis*, New York, v. 19, p. 1179-1194, 1988.

TAYLOR, G.J. Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminum resistance. *Plant and Soil*, Netherlands, v. 171, p.89-103, 1995.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.A. BISSANI.; BOHNEN, H. VOLKWEISS, S. J. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174 p. (Boletim Técnico, nº 5).

VAN HEES, P.A.W.; JONES, D.L.; FINLAYC, R.; GODBOLDB, D.L.; LUNDSTROM, U.S. The carbon we do not see – the impact of low molecular weight compounds on carbon dynamics and respiration in forest soils: a review. *Soil Biology & Biochemistry*, California, v. 37, p. 1-13, 2005.

VASCONCELOS, S.S.; ROSSIELLO, R.O.P.; JACOB-NETO, J. Parâmetros morfológicos para estabelecer tolerância diferencial à toxicidade de alumínio em cultivares de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, n. 3, p.357-363, 2002.

VELOSO, C.A.C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E.J.M. Alumínio e a absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. *Scientia Agricola*, Piracicaba, SP, v. 57, n. 01, 2000.

VITORELLO, V.A.; CAPALDI, F.R.; STEFANUTO, V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Pelotas, v. 17, p. 129-143, 2005.

YU, Y.; YU, J.; SHAN, Q.; FANG, L.; JIANG, D. Organic acid exudation from the roots of *Cunninghamia lanceolata* and *Pinus massoniana* seedlings under low phosphorus stress. *Front. For. China*, Verlag, v. 3, n. 1, p. 117-120, 2008.

WANG, J.; RAMAN, H.; ZHANG, G.; MENDHAM, N.; ZHOU, M. Aluminum tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.): physiological mechanisms, genetics and screening methods. *Journal of Zhejiang University Science B*, Hangzhou, v. 7, n. 10, p. 769-787, 2006.

WANG, J.; ZHOU, R.; CHENG, J.; BI, S. LC determination of trace short-chain organic acids in wheat root exudates under aluminum stress. *Chromatographia*, Verlag, v. 66, p. 867-872, 2007.

WENZL, P.; MANCILLA, L.I.; MAYER, J.E.; ALBERT, R.; RAO, I.M. Simulating infertile acid soils with nutrient solutions: the effects on *Brachiaria* species, *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 67, p. 1457-1469, 2003.

ZAMBROSI, F.C.B.; ALLEONI, L.R.F.; CAIRES, E.F. Aplicação de gesso agrícola e especiação iônica da solução de um Latossolo sob

sistema plantio direto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 110-117, 2007.

ZHAO, X.J.; SUCOFF, E.; STADELMANN, E.J. Al^{3+} and Ca^{2+} alteration of membrane permeability of *Quercus rubra* root cortex cells. *Plant Physiology*, Palo Alto, v. 83, p. 159-162, 1987.

ZHANG, H.; BLOOM, P. R. Dissolution kinetics of hornblende in organic acid solutions. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 63, p. 815-822, 1999.

ZHENG, S.J.; YANG, J.L.; HE, Y.F.; YU, X.H.; ZHANG, L.; YOU, J.F.; SHEN, R.F.; MATSUMOTO, H. Immobilization of aluminum resistance in buckwheat. *Plant Physiology*, Palo Alto, v. 138, p. 297-303, 2005.

APÊNDICES

Apêndice 1. Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios obtidos da análise da variância da massa fresca de raiz seminal (MFRS), da massa fresca do sistema radicular (MFSR) e massa fresca da parte aérea (MFPA) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio

Causa de variação	GL	Quadrado médio		
		MFRS	MFSR	MFPA
Alumínio	5	27,51*	141,22*	819,41**
Híbrido	1	240,97**	733,43**	369,68*
Bloco	3	14,37 ^{ns}	91,63 ^{ns}	131,87*
Al * híbrido	5	6,77 ^{ns}	39,23 ^{ns}	31,28 ^{ns}
Erro	33	7,50	19,03	31,08
Total corrigido	47			
C.V. (%)		12,78	8,66	11,60

ns, * e **: não significativo, significativo a 5 % e a 1 % de probabilidade pelo F teste, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 2. Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios obtidos da análise da variância da massa seca de raiz seminal (MSRS), da massa seca do sistema radicular (MSSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio

Causa de variação	GL	Quadrado médio		
		MSRS	MSSR	MSPA
Alumínio	5	0,103*	0,67**	13,92**
Híbrido	1	0,009 ^{ns}	0,14 ^{ns}	8,56*
Bloco	3	0,036 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,33 ^{ns}
Al * híbrido	5	0,026 ^{ns}	0,14 ^{ns}	1,80 ^{ns}
Erro	33	0,022	0,07	1,19
Total corrigido	47			
C.V. (%)		9,95	6,96	17,46

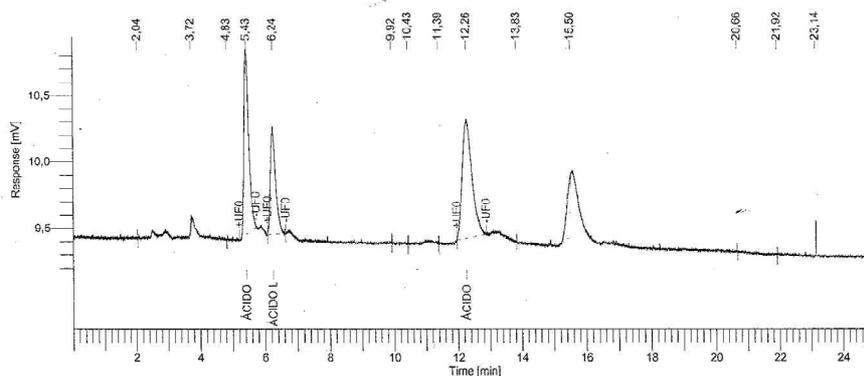
ns, * e **: não significativo, significativo a 5 % e a 1 % de probabilidade pelo F teste, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 3. Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise da variância do comprimento de raiz seminal (CRS), diâmetro de colmo (DC) e número de raízes secundárias (NRS) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio

Causa de variação	GL	Quadrado médio		
		CRS	DC	NRS
Alumínio	5	62,99 ^{**}	2,93 ^{**}	0,25 ^{ns}
Híbrido	1	256,82 ^{**}	1,13 [*]	15,89 ^{**}
Bloco	3	8,55 ^{ns}	0,53 [*]	0,26 ^{ns}
Al * híbrido	5	13,82 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,30 ^{ns}
Erro	33	7,58	0,13	0,45
Total corrigido	47			
C.V. (%)		8,38	8,66	5,97

ns, * e **: não significativo, significativo a 5 % e a 1 % de probabilidade pelo F teste, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 4. Cromatograma com os tempos de retenção do ácido málico, lático e cítrico, determinados na raiz adventícia e fasciculada e na segunda folha dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio



Apêndice 5. Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise da variância da concentração de ácido málico em raiz adventícia (AMRA) e fasciculada (AMRF) dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio

Causa de variação	GL	Quadrado médio	
		AMRA	AMRF
Alumínio	5	10186,05 [*]	9172,21 [*]
Híbrido	1	30821,04 [*]	15315,66 [*]
Bloco	3	5322,05 ^{ns}	3694,87 ^{ns}
Al * híbrido	5	2582,81 ^{ns}	1448,74 ^{ns}
Erro	33	2646,88	3253,27
Total corrigido	47		
C.V. (%)		18,44	25,69

ns, * e **: não significativo, significativo a 5 % e a 1 % de probabilidade pelo F teste, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

Apêndice 6. Valores dos graus liberdade (GL) e dos quadrados médios da análise da variância do teor de Al dos híbridos de milho 30F53 e 32R48, cultivados por três semanas, em solução nutritiva contendo diferentes atividades de alumínio

Causa de variação	GL	Quadrado médio
		Teor de Alumínio
Alumínio	5	0,044930 [*]
Híbrido	1	0,000825 ^{ns}
Bloco	3	0,023443 [*]
Al * híbrido	5	0,001153 ^{ns}
Erro	33	0,001199
Total corrigido	47	
C.V. (%)		23,17

ns, * e **: não significativo, significativo a 5 % e a 1 % de probabilidade pelo F teste, respectivamente. C.V.: coeficiente de variação.

