

# AMENIZAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS DO ALUMÍNIO PELA ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS À SOLUÇÃO NUTRITIVA.

Alves, R. M. M. (1)<sup>1</sup>; Cambraia, J. (2); Cano, M. A. O. (2); Oliveira, J. A. de (3)

## INTRODUÇÃO

Um dos principais mecanismos de tolerância ao Al, manifestado por várias espécies vegetais, baseia-se na capacidade que as plantas teriam de sintetizar e exsudar para o meio de cultivo certos ácidos orgânicos (KOCHIAN et al., 2004). Estes ácidos orgânicos seriam capazes de complexar a forma monomérica e mais tóxica do Al no meio de cultivo, diminuindo sua absorção e, portanto, diminuindo a intensidade da fitotoxicidade. A indução à exsudação parece ser especificamente regulada pelo Al e o sítio de sua secreção parece ser a zona distal de transição nas raízes (KOLLMEIER et al., 2001).

Espécies não tóxicas de Al podem ser formadas por sua complexação com ligantes moleculares de baixo peso como sulfato, fluoreto e ácidos orgânicos. Corroborando esta idéia, DELHAIZE et al. (1993), relataram atenuações na redução do crescimento radicular causada pelo Al, enquanto KOCHIAN, (1995) observou, *in vitro*, redução na toxicidade potencial do Al sobre membranas, pela adição de citrato e, ou malato às soluções de tratamento. A adição de ácidos orgânicos como: malato, citrato, oxalato ou outros aos meios de cultivo das plantas ameniza a toxicidade ao Al em espécies sensíveis (DELHAIZE et al., 1993, PELLET et al., 1996, ZHENG et al., 1998). MERIGA et al. (2003), trabalhando com dois cultivares de arroz, com tolerância diferencial ao Al, mostraram que as plântulas expostas ao Al apresentavam formação de calose, acúmulo de Al e peroxidação de lipídios. Verificaram ainda que a aplicação de citrato ao meio de cultivo, aliviou os efeitos tóxicos do Al sobre os dois cultivares de arroz, principalmente no sensível.

O objetivo deste trabalho foi, pois, verificar a capacidade de amenizar a toxicidade de Al adicionando-se dois ácidos orgânicos: ácido málico e ácido cítrico, à solução de cultivo de dois cultivares de arroz com tolerância diferencial ao Al

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste experimento foram utilizados dois cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.): Fernandes (CNA-1158) e Maravilha (CNA-6843-1), considerados tolerante e sensível ao Al (FAGERIA et al., 1988), respectivamente, fornecidos pela Embrapa / Arroz e Feijão, em Goiânia, GO.

---

(1).Pesquisador da Embrapa / Amapá.; (2).Professor da Universidade Federal de Viçosa / Pesquisador do CNPq;  
(3).Professor da Universidade Federal de Viçosa. ([rogerio@cpafap.embrapa.br](mailto:rogerio@cpafap.embrapa.br))

As sementes, selecionadas, quanto ao tamanho e forma, foram escarificadas quimicamente com  $H_2SO_4$  concentrado por 1 min, (para quebra de dormência) e, em seguida, lavadas com água corrente e água desmineralizada. Após este tratamento inicial, as sementes foram tratadas com hipoclorito de sódio 2% (v/v) por 15 minutos, para esterilização superficial, seguindo-se lavagem em água corrente e desmineralizada. Elas foram, então colocadas para germinar em cartuchos de papel “germitest”, pH neutro, mergulhados em solução nutritiva de Clark (CLARK, 1975), pH 4,0, com um terço da força iônica original, conforme descrito por PEIXOTO et al. (2001).

Onze dias após a semeadura, as plântulas foram selecionadas quanto à uniformidade de tamanho e forma e transplantadas, em número de uma por vasos, contendo 100 mL de solução nutritiva de Clark (CLARK, 1975), pH 4,0, modificadas para conter os seguintes tratamentos:

- A) Solução nutritiva de Clark, pH 4,0 (Controle)
- B) Solução nutritiva de Clark, pH 4,0 e Al 1,0 mM
- C) Solução nutritiva de Clark, pH 4,0, Al 1,0 mM e ácido málico 1 mM
- D) Solução nutritiva de Clark, pH 4,0, Al 1,0 mM e ácido cítrico 1 mM

As plantas foram mantidas nos tratamentos acima descritos, com trocas diárias das soluções de tratamento, durante sete dias. Encerrado o experimento, as plantas foram removidas, lavadas em água corrente e depois em água desmineralizada e, após determinação dos comprimentos das raízes e da parte aérea, as plantas foram colocadas para secar em estufa, a 70 °C, até obtenção de massa constante, para determinação da massa seca.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ácidos málico e cítrico foram adicionados à solução de cultivo, na tentativa de se avaliar suas capacidades de amenizarem os efeitos tóxicos do Al sobre o crescimento dos dois cultivares de arroz (Quadro 1). No caso do cultivar Fernandes não se observou qualquer efeito da exposição ao Al sobre as variáveis de crescimento analisadas, tanto nas raízes como na parte aérea e, por conseqüência, não foi possível detectar os efeitos potenciais destes ácidos orgânicos na amenização da toxicidade do Al neste cultivar.

No caso do cultivar Maravilha, foram observadas reduções de 13,4 e 16,3 % e de 29,4 e 15,7 % no comprimento e na produção de matéria seca das raízes e da parte aérea respectivamente, pela exposição das plantas ao Al na concentração de 1 mM (Quadro 1). A adição de quantidades equimoleculares tanto de ácido málico como de ácido cítrico eliminaram totalmente os efeitos tóxicos do Al.

O cultivar Fernandes cresceu mais e produziu maior quantidade de matéria seca tanto de raízes como de parte aérea do que o cultivar Maravilha, independente do tratamento aplicado.

Os resultados obtidos foram semelhantes àqueles relatados por ABDULLAHI et al. (2004). Eles observaram que o ácido cítrico aplicado à solução de cultivo, amenizou os efeitos do Al sobre o comprimento e a produção de matéria fresca e seca de raízes de plântulas de soja. Estes autores observaram, ainda, que na ausência de Al, aplicações do ácido, isoladamente, não foram capazes de implementar o desempenho vegetal.

Quadro 1 – Amenização dos efeitos tóxicos do alumínio sobre o crescimento de plantas de dois cultivares de arroz pela adição de ácidos orgânicos ao meio de cultivo, após sete dias.

Cultivares	Tratamentos	Parte da planta	
		Raízes	Parte aérea
<i>Comprimento (mm)</i>			
Fernandes	SN <sup>2</sup>	231,2 Aa <sup>1</sup>	275,1 Aa
	SN + Al 1,0 mM	226,0 Aa	269,4 Aa
	SN + Al 1,0 mM + ácido málico 1 mM	223,8 Aa	262,1 Aa
	SN + Al 1,0 mM + ácido cítrico 1 mM	240,4 Aa	275,7 Aa
Maravilha	SN	190,4 Ba	186,9 Ba
	SN + Al 1,0 mM	164,8 Bb	156,4 Bb
	SN + Al 1,0 mM + ácido málico 1 mM	185,0 Ba	186,6 Ba
	SN + Al 1,0 mM + ácido cítrico 1 mM	196,4 Ba	184,4 Ba
<i>Matéria Seca (mg planta<sup>-1</sup>)</i>			
Fernandes	SN	27,78 Aa	65,89 Aa
	SN + Al 1,0 mM	27,24 Aa	64,76 Aa
	SN + Al 1,0 mM + ácido málico 1 mM	27,42 Aa	64,00 Aa
	SN + Al 1,0 mM + ácido cítrico 1 mM	27,90 Aa	62,86 Aa
Maravilha	SN	12,66 Ba	40,18 Ba
	SN + Al 1,0 mM	8,94 Bb	33,87 Bb
	SN + Al 1,0 mM + ácido málico 1 mM	12,11 Ba	38,76 Ba
	SN + Al 1,0 mM + ácido cítrico 1 mM	11,50 Ba	40,87 Ba

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre tratamentos para cada cultivar e pela mesma letra maiúscula entre cultivares para o mesmo tratamento, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>SN = Solução Nutritiva.

MERIGA et al. (2003), avaliaram os efeitos do Al sobre o crescimento, a formação de calose, a acumulação de Al e a peroxidação de lipídios, em plantas de arroz submetidas ao Al na presença ou ausência de citrato adicionado ao meio de cultivo. Verificaram que a acumulação de calose, observada em plantas expostas ao Al, foi eliminada pela adição de citrato, fato este atribuído à capacidade deste ácido orgânico formar complexo com o Al, eliminando o efeito indutor do Al sobre a produção de calose.

WEHR et al. (2003), demonstraram que o ácido cítrico e, ou o ácido málico podem deslocar o Al ligado à pectina da parede celular, pela dissolução dos géis de pectato de Al e, assim, favorecer a hidrólise da pectina pela enzima poligalacturonase, contribuindo para a atenuação da toxicidade do Al.

Resultados como estes suportam a idéia de que ácidos orgânicos, como o málico e o cítrico, podem exercer papel protetor do sistema radicular das plantas contra os efeitos tóxicos do Al, quando adicionados ao meio e, ou quando exsudados pela planta, resultando em melhor desempenho do sistema radicular e, indiretamente, possibilitando a recuperação da parte aérea (EZAKI et al. 2004).

A questão fundamental a ser discutida, entretanto, diz respeito às quantidades de ácidos orgânicos necessárias para resultarem numa amenização significativa dos efeitos tóxicos do Al. GONÇALVES et al. (2005) estimando a quantidade de ácidos orgânicos exsudada para o meio exterior chegaram à conclusão que no caso do sorgo ela foi suficiente para a amenização dos efeitos do Al. Como esses autores aplicaram o Al na concentração de 0,18 mM e aqui se utilizou 1,0 mM, provavelmente, os ácidos exsudados também não seriam capazes eliminar os efeitos do Al. Contudo, no presente caso, trabalhou-se com arroz uma espécie muito mais tolerante ao Al e que poderia estar exsudando uma quantidade muito maior de ácido orgânico. Apesar dos defensores da idéia do mecanismo de exclusão acreditarem que esta amenização poderia ocorrer numa fina camada da rizosfera em torno das raízes, onde a concentração do ácido orgânico seria muito maior, ainda assim a idéia parece pouco provável dado à rápida difusão destes ácidos para regiões mais distantes no meio de cultivo (LAZOF, 1994).

## **CONCLUSÕES**

A presença de quantidade equimoleculares de ácidos orgânicos, adicionados ou exsudados, sem dúvida, pode permitir a retomada do crescimento normal do cultivar sensível. A eficácia dos dois ácidos utilizados: málico e cítrico, na atenuação dos efeitos do Al, foi similar, pelo menos nas concentrações utilizadas.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABDULLAHI, B.A.; HUANG, P.; BAO, D.P.; MENG, X.Y.; JIANG, B.H.; ZHU, J.; SHEN, H.G.; YANG, Y.H. Effects of citric acid on soybean seedling growth under aluminum stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 27, p. 367 – 375. 2004.

CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 458 – 460. 1975.

DELHAIZE, E.; CRAIG, S.; BEATON, C.D.; BENNET R.J.; JAGADISH, V.C.; RANDALL, P.J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L) I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. **Plant Physiology**, v. 103, p. 685 – 693., 1993.

EZAKI, B.; SUZUKI, M.; MOTODA, H.; KAWAMURA, M.; NAKASHIMA, S.; MATSUMOTO, H. Mechanism of gene expression of *Arabidopsis* glutathione S-transferase, AtGST1, and AtGST11 in response to aluminum stress **Plant Physiology**, v. 134, p. 1672 – 1682. 2004.

FAGERIA, N.K., WRIGHT, R.J., BALIGAR, V.C. Rice cultivars response to aluminum in nutrient solution. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, p. 1133 – 1142. 1988.

GONÇALVES, J.F.C.; CAMBRAIA, J.; MOSQUIM, P.R.; ARAÚJO, E.F. Aluminum effect on the organic acid production and accumulation in sorghum. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, p. 507-520. 2005.

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

KOCHIAN, L.V.; HOEKENGA, O.A.; PIÑEROS, M.A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 459 – 493. 2004.

KOLLMEIER M.; DIETRICH, P.; BAUER, C. S.; HORST, W. J.; HEDRICH, R. Aluminum activates a citrate-permeable anion channel in the aluminum-sensitive zone of the maize root apex. A comparison between an aluminum-sensitive and an aluminum-resistant cultivar **Plant Physiology**, v. 126, p. 397 – 410. 2001.

LAZOF, D. B.; GOLDSMITH, J. G.; RUFTY, T. W.; LINTON, R. W. Rapid Uptake of Aluminum into Cells of Intact Soybean Root Tips. (A Microanalytical Study Using Secondary Ion Mass Spectrometry) **Plant Physiology**, v. 106, p. 1107 – 1114. 1994.

MERIGA, B.; REDDY, B.K.; JOGESWAR, G.; REDDY, L.A.; KISHOR, P.B.K. Alleviating effect of citrate on aluminium toxicity of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Current Science**, v. 85, p. 383 -3 86. 2003.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on fatty acid composition and lipid peroxidation of a purified plasma membrane fraction of root apices of two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1061 – 1070. 2001.

PELLET, D.M.; GRUNES, D.L.; KOCHIAN, L.V. Organic acid exudation as an aluminum tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). **Planta**, v. 196, p. 788 – 795.1995.

WEHR, J.B.; MENZIES, N.W.; BLAMEY, F. P. C. Model studies on the role of citrate, malate and pectin esterification on the enzymatic degradation of Al and Ca-pectate gels: possible implications for Al tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 1007 – 1010. 2003.

ZHENG, S. J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. Continuous secretion of organic acids is related to aluminum resistance during relatively long-term exposure to aluminum stress. **Physiologia Plantarum**, v. 103, p. 209 – 14. 1998.