

# Novas perspectivas para adaptação de Culturas ao Cerrado

Contribuição da biologia molecular na compreensão e solução dos efeitos tóxicos do alumínio em plantas

**Geraldo M. A. Cançado,**  
Eng<sup>o</sup> Agrônomo, M.S., EPAMIG.  
cancado@epamigcaldas.gov.br

**Newton Portilho Carneiro,**  
Biólogo, Ph.D. EMBRAPA/CNPMS  
newtonc@cnpmis.embrapa.br

**Andréa Almeida Carneiro,**  
Bióloga, Ph.D. EMBRAPA/CNPMS  
andreaac@cnpmis.embrapa.br

**Antônio Álvaro Corsetti Purcino,**  
Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Ph.D. EMBRAPA/CNPMS  
corsetti@cnpmis.embrapa.br

**Claudia Teixeira Guimarães,**  
Eng<sup>a</sup> Agrônoma, D.S. EMBRAPA/CNPMS  
claudia@cnpmis.embrapa.br

**Vera Maria Carvalho Alves,**  
Eng<sup>a</sup> Agrônoma, D.S. EMBRAPA/CNPMS  
vera@cnpmis.embrapa.br

**Sidney Netto Parentoni,**  
Eng<sup>o</sup> Agrônomo, M.S. EMBRAPA/CNPMS  
sidney@cnpmis.embrapa.br

**Isabel Regina Prazeres de Souza,**  
Eng<sup>a</sup> Agrônoma, Ph.D. EMBRAPA/CNPMS  
isabel@cnpmis.embrapa.br

**Edilson Paiva,**  
Eng<sup>o</sup> Agrônomo, Ph.D. EMBRAPA/CNPMS  
edilson@cnpmis.embrapa.br

Fotos e ilustrações cedidas pelos autores

A acidez do solo é um dos principais fatores que limitam a produção agrícola nos trópicos. O Cerrado brasileiro ocupa 205 milhões de hectares do território nacional (fig. 1) e, apesar de apresentar excelentes qualidades no que se refere à topografia, luminosidade, temperatura e estrutura física do solo, se caracteriza por possuir baixa fertilidade, pH ácido e elevada saturação de alumínio (Al) (Embrapa/CNPAC, 2000). O Al é tóxico para a grande maioria das espécies de plantas cultivadas, promovendo a paralisação do crescimento radicular e, conseqüentemente, prejudicando o desenvolvimento das plantas. O Cerrado tem sido considerado como uma das últimas grandes fronteiras mundiais disponíveis para a expansão agropecuária, assumindo importância estratégica para o Brasil. Entretanto, para que seu uso possa ocorrer de forma cada vez mais eficiente e racional, é imprescindível que juntamente com as atuais práticas utilizadas na exploração agrícola dessa região, novas alternativas sejam criadas para amenizar ou mesmo eliminar as adversidades impostas por aquele ambiente.

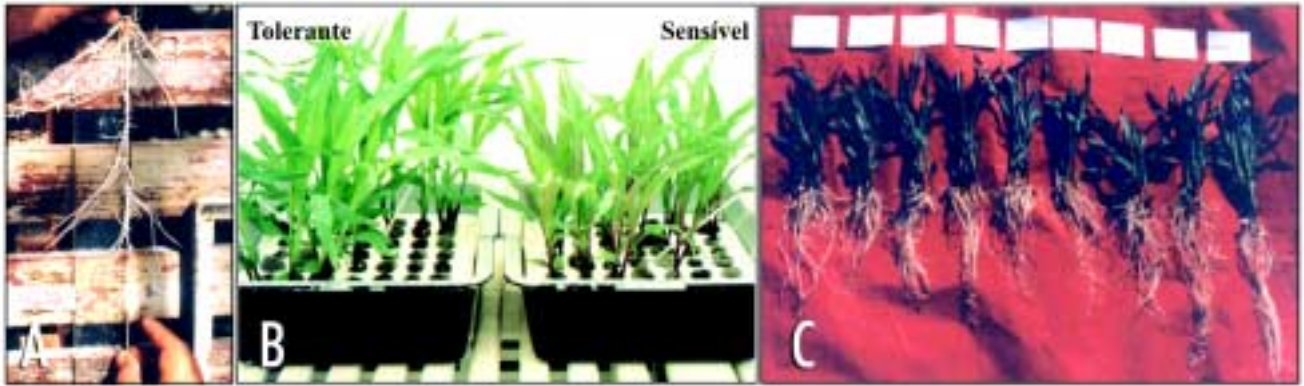
As alternativas de manejo mais utili-

zadas para contornar a toxidez provocada pelo Al fundamentam-se no uso de duas práticas. Uma delas é o processo da calagem, que consiste na precipitação do Al solúvel pela adição de calcário ao solo. Embora seja uma prática corriqueira na agricultura, sua eficiência limita-se à camada superficial do solo, já que a incorporação do calcário em profundidades maiores é economicamente inviável. Assim, a calagem favorece o desenvolvimento radicular apenas na camada superficial do solo, o que torna a planta mais susceptível aos períodos de veranicos, muito comuns na região. Além disso, os efeitos da calagem nas camadas superficiais são ainda mais reduzidos sob “plantio direto”, onde não se utiliza implementos agrícolas para revolver o solo.

Outra prática que vem sendo bastante enfatizada é a utilização de cultivares mais tolerantes ao Al. Hoje a Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, tem identificado e caracterizado, em seu germoplasma, milho e sorgo tolerantes a níveis que variam de 40% a 60% de saturação de Al no solo. Os níveis de saturação são calculados em função da concentração de cátions no solo. Métodos de seleção e variabilidade genética em milho são mostrados na



Figura. 1 - Área do Cerrado brasileiro. Fonte: Embrapa Cerrados (2000)



**Figura 2** – Métodos de seleção de milho tolerante a Al e variabilidade genética em milho. A = Comprimento da raiz seminal; B = Ensaio em casa de vegetação de uma variedade tolerante e uma susceptível ao Al; C = Variabilidade genética em milho

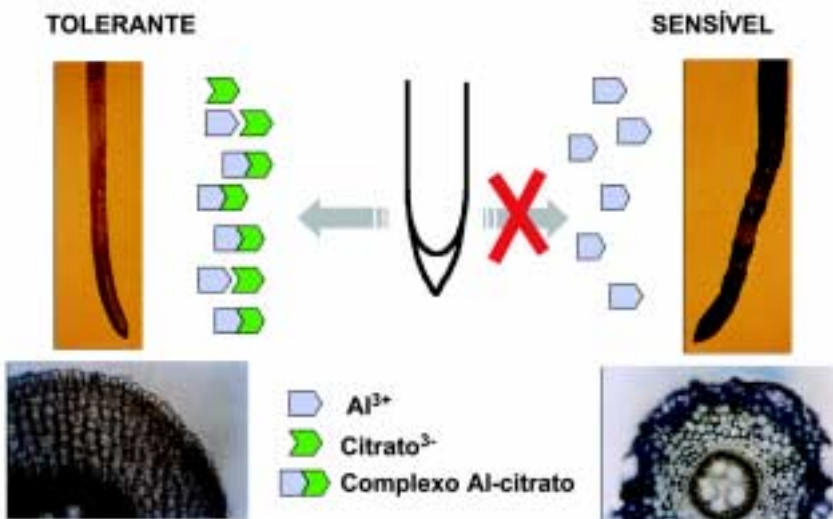
figura 2. A idéia desse artigo é descrever sucintamente como a biologia molecular tem contribuído para aumentar os conhecimentos relacionados com os mecanismos de tolerância das plantas ao estresse de Al. Além do que, com a integração de técnicas da biologia molecular nos programas de melhoramento genético, espera-se que o desenvolvimento de cultivares com melhor adaptação aos ambientes desfavoráveis seja mais rápido e eficiente. Dessa forma, a utilização da prática de calagem, associada ao uso de genótipos mais adaptados às condições de solo ácido com elevada saturação de Al serão estratégias de maior potencial para a utilização sustentável do Cerrado.

**Efeitos do Al em plantas** - O Al, terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, quando em soluções ácidas ( $\text{pH} < 5,0$ ), apresenta-se principalmente na forma de  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ , a qual é tóxica para as plantas. O primeiro sintoma de toxidez é a inibição do alongamento da raiz, que ocorre cerca de 1-2 h após a exposição a Al (Kochian, 1995). Este cátion, quando em contato com as raízes, promove rapidamente a paralisação do crescimento radicular, tornando-as atrofiadas em função da morte do meristema radicular. Frequentemente, plantas afetadas pelo Al apresentam sintomas de deficiência de nutrientes, tais como P, Ca, Mg, K e Mo, devido à interferência do Al nos proces-

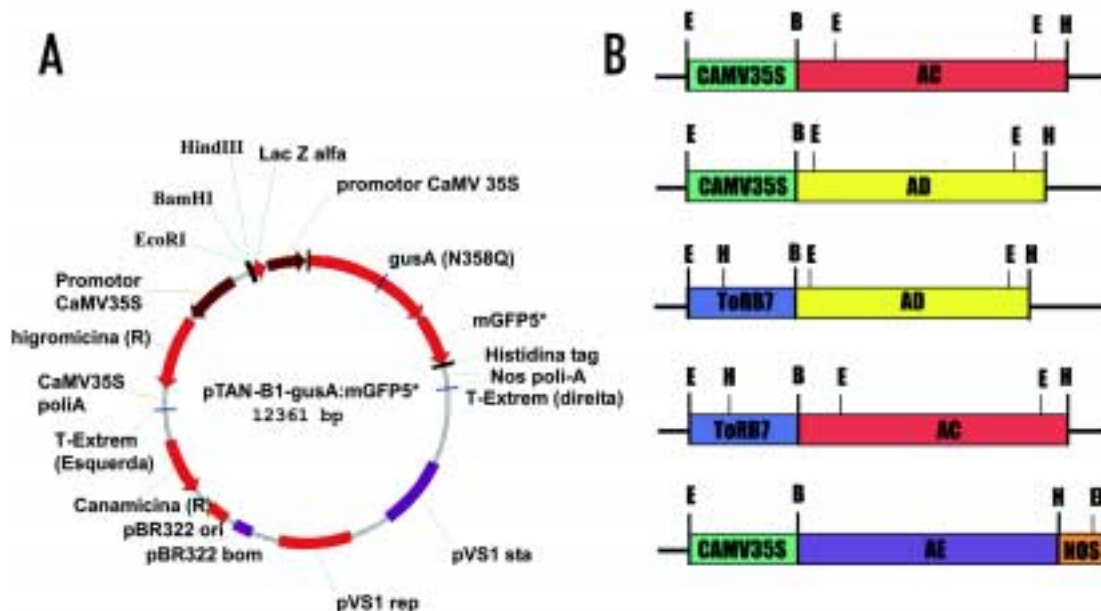
sos de absorção, transporte e uso destes nutrientes. Tais deficiências aparentemente ocorrem porque o Al induz a deposição de calose nos canais plasmodesmáticos, inibindo fisicamente o transporte simplástico entre células (Sivaguru *et al.*, 2000). A parte distal da zona de transição no ápice das raízes, onde as células estão entrando em fase de alongamento, é o sítio da ação tóxica primária do Al (Sivaguru e Horst, 1998).

Outro efeito prejudicial do Al está na mudança da homeostase celular do  $\text{Ca}^{2+}$  e da competição por canais de  $\text{Ca}^{2+}$ . A inibição da absorção celular de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo  $\text{Al}^{3+}$  afeta, em maior ou menor intensidade, vários processos celulares, tais como, mitose, citocinese, gravitropismo, crescimento polar, correntes citoplasmáticas e sinalização celular (Huang *et al.*, 1996). Estudos recentes têm indicado que interações do Al com elementos envolvidos na transdução de sinais, responsáveis pela comunicação da célula com o ambiente são, aparentemente, eventos primários da toxidez causada pelo Al. O Al teria como alvos no interior da célula, o fosfatidilinositol-bisfosfato e a proteína Gp, moléculas responsáveis pela produção de dois importantes mensageiros secundários, o inositol-1,4,5-trifosfato e o diacilglicerol. Desta forma, o Al interferiria nos processos de transdução de sinais, que, por sua vez, ocasionariam rápidas disfunções metabólicas na planta (Jones e Kochian, 1995; Haug *et al.*, 1994; Shi *et al.*, 1993).

O Al também possui efeitos prejudiciais sobre moléculas de ácidos nucléicos, principalmente por modificar a conformação espacial da dupla hélice, devido a interações com as cargas residuais dos grupamentos fosfato. O Al



**Figura 3** - Mecanismo proposto para explicar tolerância ao Al baseado na exudação de ácido orgânico pela raiz: plantas de milho tolerantes ao Al exudam suficiente ácido orgânico para quelatar o Al e impedir sua penetração na raiz. As raízes demonstradas nas fotos foram coradas com hematoxilina para detecção do Al (Cançado *et al.*, 1999)



**Figura 4** – Trabalhos de modificação da expressão do gene da citrato sintase em planta. A: Mapa do plasmídeo pCambia C2 (1303); B: Construção gênica Citrato Sintase (CS); Promotores CAMV35S e TorB7; AC: CS de *Dauca carota* com peptideo sinal de mitocôndria; AD: CS de *Dauca carota* sem peptideo sinal de mitocôndria; AE: CS de *Escherichia coli*; NOS: Sítio de poliadenilação NOS; E: EcoRI; B: BamHI; H: HindIII

pode ainda promover alterações na permeabilidade da membrana plasmática devido a alterações na fluidez e na densidade do empacotamento dos fosfolípidos, aumento na síntese de lignina, prejudicando o processo de elongação celular, inibição da absorção de  $O_2$  nos ápices radiculares devido a interferência no fluxo de elétrons na mitocôndria e a danos ao fotossistema II, reduzindo a taxa fotossintética (Jones e Kochian, 1995).

A elucidação dos processos bioquímicos e fisiológicos que atuam no processo da tolerância ao Al, principalmente no que se refere à identificação e à compreensão da regulação dos genes envolvidos a partir de técnicas moleculares é de fundamental importância para o melhoramento genético.

#### Mecanismos de tolerância ao Al -

Nem todas as espécies de plantas respondem de forma semelhante ao estresse causado pelo Al. Ao que parece, as plantas utilizam-se de vários mecanismos para contornarem os efeitos tóxicos do Al. Os mecanismos de tolerância ao Al propostos na literatura podem ser classificados em dois grupos: i) mecanismos de exclusão ou apoplásticos, com a imobilização ou neutralização do Al externamente à célula, e ii) mecanismos simplásticos, decorrentes da imobilização ou neutra-

lização do Al dentro da célula (Taylor, 1991; Kochian, 1995). Várias formas de ação, distribuídas entre estes dois mecanismos, têm sido propostas, na tentativa de explicar como as plantas podem se desenvolver na presença do Al, sendo a maioria delas apenas especulativa. Entretanto, alguns dos mecanismos citados com maior frequência na literatura serão descritos sucintamente a seguir.

A baixa Capacidade de Troca Catiônica (CTC) da parede celular da raiz tem sido associada à tolerância ao Al. Segundo este modelo, plantas com elevada CTC radicular adsorvem mais Al, elevando a concentração desse metal próximo às células. No entanto, para algumas espécies de plantas, não há nenhuma relação entre a CTC radicular e a tolerância ao Al. Embora a membrana plasmática seja considerada como um dos alvos do Al, em alguns casos, ela pode atuar como uma barreira à absorção deste elemento para o interior da célula. Foi observado que a densidade de cargas elétricas negativas presentes em membranas das células dos ápices radiculares de trigo eram, em média, 26% superior no genótipo sensível em relação ao tolerante (Yermiyahu *et al.*, 1997). Assim, alterações na composição de fosfolípidos da membrana plasmática podem contribuir para a tolerância ao Al, por dificultar a interação deste com a membrana plasmática.

O aumento de pH na região da

rizosfera também é uma forma de exclusão do Al, pois leva à formação de uma zona de precipitação deste elemento. Certas plantas absorvem nitrogênio preferencialmente na forma de  $NO_3^-$ , em relação à forma de  $NH_4^+$  e, como consequência dessa absorção diferencial, há um maior efluxo de íons  $OH^-$  pela raiz, o que promove a elevação do pH na rizosfera. Outra barreira que o Al pode enfrentar para atingir as regiões sensíveis do meristema radicular é a mucilagem, substância formada por polissacarídeos, que reveste a superfície radicular. Em plantas de trigo tolerantes ao Al, a síntese contínua de mucilagem nos ápices radiculares dificulta a penetração do Al, protegendo as regiões de crescimento da raiz. Já foi demonstrado que a mucilagem pode ser responsável por reter até 35% do Al presente no apoplasto (Archambault *et al.*, 1996).

A síntese de calose, um poliglicosídeo formado por unidades de 1,3- $\beta$ -glucano que se acumula na parede celular, também é uma resposta das plantas aos diversos tipos de estresses (Simmons *et al.*, 1992). Genótipos de trigo sensíveis ao Al produzem mais calose do que genótipos tolerantes quando expostos a este elemento (Horst *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1994; Llugancy *et al.*, 1994). A enzima 1,3- $\beta$ -glucanase está incluída na família das proteínas PR (*pathogenesis related*), já que muitas de suas isoformas são induzidas durante

infecções fúngicas. Análises do padrão de síntese do mRNA da 1,3- $\beta$ -glucanase, isolado de ápices radiculares de trigo, demonstram que a expressão deste gene é fortemente regulada pela presença de Al (Cruz-Ortega *et al.*, 1997). Desta forma, o padrão de síntese de calose pode ser um bom indicativo do grau de injúria que o Al causa nas raízes, podendo, inclusive, ser utilizado como um parâmetro de seleção.

Dentre os mecanismos de exclusão, a exudação de moléculas quelantes que complexam o Al tem sido o mais estudado. Tais quelantes são liberados no apoplasto e/ou na rizosfera, impedindo que o Al alcance seus sítios de toxidez. O Al, uma vez complexado com a molécula exudada pela raiz, perde seu efeito fitotóxico. Uma importante classe desses quelantes são os ácidos orgânicos de baixo peso molecular provenientes do ciclo dos ácidos tricarbóxílicos. Um modelo do mecanismo de como ácidos orgânicos podem se complexar com íons de Al no solo é descrito na figura 3. Em trigo, o Al pode estimular a exudação do ácido málico e succínico (Delhaize *et al.* 1993a; 1993b), já em milho, foi observada a exudação de ácido cítrico, málico e trans-acônítico (Pellet *et al.*, 1995, Jorge e Arruda, 1997). Trabalhos semelhantes na Embrapa Milho e Sorgo observaram que plântulas de milho tolerantes ao Al exudavam ácido cítrico e ácido málico em concentrações superiores às plântulas sensíveis ao Al. Parece que nos genótipos tolerantes à presença do Al regula o surgimento de canais aniônicos que facilitam a exudação destes ácidos das células do tecido apical (Piñeros e Kochian, 2001). Uma das evidências mais convincentes sobre o envolvimento da exudação de ácidos orgânicos na tolerância ao Al foi apresentado por Fuente-Martínez *et al.* (1997), com a produção de plantas de tabaco e mamão, superexpressando a enzima citrato sintase. Em função dessa super produção e exudação de citrato, as plantas transgênicas apresentaram aumento significativo na tolerância ao Al. A atividade da

enzima citrato sintase foi também aumentada pela exposição de plantas de centeio ao Al (Li *et al.* 2000). Por outro lado, evidências recentes indicam que as enzimas envolvidas na síntese dos ácidos orgânicos, como malato desidrogenase e citrato sintase não são induzidas pelo Al em cultivares de milho mais tolerantes (Alves *et al.*, dados não publicados, Embrapa Milho e Sorgo).

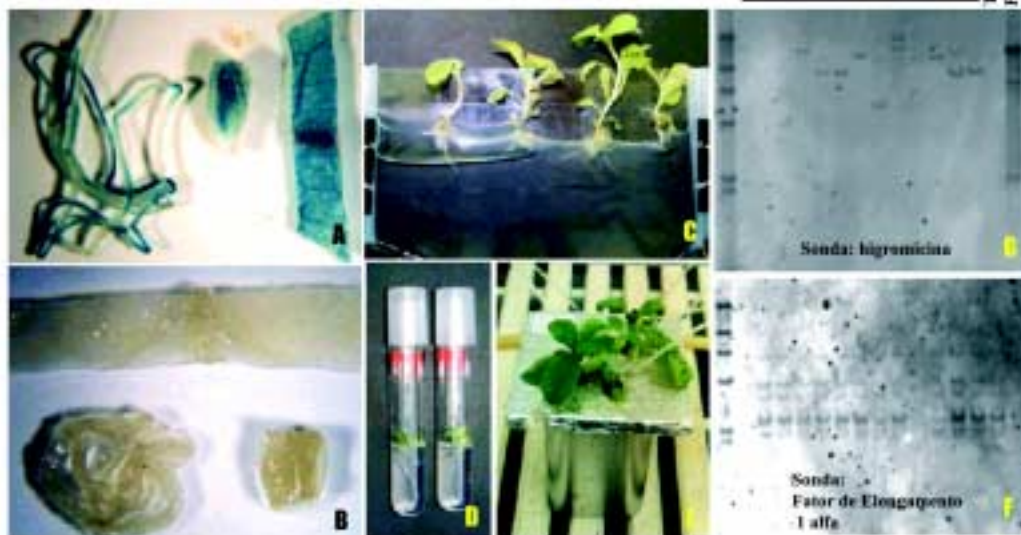
A indução da síntese de proteínas específicas pode também estar relacionada com a resposta de plantas ao estresse causado pelo Al. Basu *et al.* (1994) observaram o acúmulo significativo de proteínas em solução nutritiva contendo Al, onde um genótipo tolerante de trigo havia sido cultivado, em comparação com o sensível. Segundo os autores, tais proteínas poderiam ter uma ação semelhante aos ácidos orgânicos, quelando o Al solúvel. Vários trabalhos demonstram alterações na síntese de proteínas em ápices radiculares para diferentes espécies de plantas, quando expostas ao Al (Caçado e Paiva, 1999). Tais alterações vão desde a indução até a inibição completa de determinados polipeptídeos, sendo que, na maioria das vezes, apresentam padrões de expressão diferenciados entre os genótipos tolerantes e sensíveis.

**Genética da tolerância ao Al** - O uso de cultivares mais tolerantes à toxidez do Al apresenta-se como uma solução sustentável, propiciando ganhos permanentes de produtividade em so-

los sob vegetação de cerrado. Para tal, diversos estudos têm sido conduzidos no intuito de elucidar a genética da tolerância ao Al em milho, trigo, sorgo e soja, espécies cultivadas, de grande interesse econômico para o Cerrado. Trabalhos sobre genética da tolerância a Al abrangem alguns tópicos envolvendo a identificação de fontes de tolerância e a avaliação de populações segregantes em cruzamentos contrastantes, que culminam em estudos de herança e do tipo de ação gênica associada com a tolerância (Caçado e Paiva, 1999).

A grande maioria dos estudos de herança da tolerância ao Al tem sido conduzida em trigo, onde os resultados sugerem que um pequeno número de genes controlariam esta característica. Em milho, os resultados quanto ao número de genes e ao tipo de ação gênica são conflitantes, mas parece existir um consenso quanto à existência de poucos genes envolvidos na expressão da tolerância. No entanto, a tolerância ao Al em sorgo parece ser uma característica dominante e monogênica, enquanto que, em arroz, tem sido considerada como herança poligênica, com efeitos aditivos significativos. Adicionalmente à existência de genes maiores explicando grande parte da variação para tolerância ao Al, existem evidências sugerindo que genes modificadores podem ter papel importante na modulação do efeito desses genes maiores. Quanto ao modo de ação gênica, em

**Figura 5** – Atividade do GUS em plantas transgênicas de tabaco (A); plantas de tabaco transformadas (B); Gradiente de Al (0 and 6 ppm) Placa (C); Tubo (D); Plantas transgênicas de tabaco crescendo em 6 ppm, em teste de hematoxilina (E); Southern blot de algumas plantas transformadas; sonda higromicina (F), sonda factor de alongamento 1 alfa (G)



geral, a tolerância ao Al tem sido reportada como característica dominante, podendo variar de acordo com o nível de Al utilizado na solução nutritiva.

Com o advento dos marcadores moleculares, tornou-se possível identificar e mapear regiões genômicas associadas com a tolerância, o que pode ser utilizado como estratégia alternativa para clonagem dos genes de interesse e para dar suporte aos estudos sobre os mecanismos envolvidos no processo da tolerância. Dentre os cinco QTLs explicando 60% da tolerância ao alumínio em milho, dois deles estavam mapeados próximos aos genes da isocitrato desidrogenase e malato desidrogenase (Ninamango-Cárdenas, 2000), enzimas que atuam na via metabólica dos ácidos orgânicos, um dos principais mecanismos propostos para a tolerância ao alumínio em plantas (Kochian, 1995). Outro QTL, identificado por Ninamango-Cárdenas (2000) foi mapeado próximo ao *Alm2*, um QTL também associado com a tolerância ao alumínio, em milho (Sibov *et al.*, 1999). O desenvolvimento da raiz seminal de plântulas crescidas em solução nutritiva na presença de níveis tóxicos de Al tem sido um índice fenotípico bastante utilizado na avaliação da tolerância ao Al, em milho, por apresentar alta herdabilidade e baixo coeficiente de variação ambiental (Martins *et al.*, 1999).

O mapeamento comparativo pode também fornecer informações complementares sobre a conservação de genes e de mecanismos de tolerância ao alumínio entre espécies relacionadas. Existem, hoje, evidências de uma possível conservação de alguns genes de tolerância ao alumínio entre gramíneas correlacionadas como trigo, aveia e cevada.

### Prospecção de genes induzidos pelo Al

- Alterações na expressão de genes induzidos por estresses ambientais vêm sendo relatadas para várias espécies vegetais. Projetos de seqüenciamento genômico e técnicas de análise de expressão diferencial de genes como *microarrays* e RT-PCR têm auxiliado a identificação de genes cuja expressão é alterada por estresses ambientais. Recentemente, com o uso de mutantes de *Arabidopsis thaliana* tolerantes e sensíveis ao Al, tem sido possível identificar genes que têm sua expressão alterada pelo Al, como é o caso do mutante tolerante ao Al (*alr-104*), cuja tolerância baseia-se na elevação do pH da rizosfera. Muitos destes genes poderão ser

utilizados em transformação genética de plantas, na tentativa de tornar culturas de interesse agrônomico mais tolerantes ao Al, ou ainda, serem utilizados como marcadores moleculares em programas de seleção genética. Recentemente, sete clones de cDNA induzidos pelo Al foram isolados em ápices radiculares de trigo cultivado, sendo que alguns dos clones apresentavam elevado grau de homologia com genes que codificam para inibidores de proteinases, fenilamonioliasas (PAL) e proteínas do tipo PR (Snowden *et al.*, 1995, Richards *et al.*, 1994, Snowden *et al.*, 1993). Em tabaco, foi isolado um clone (pAl 201), induzido pela presença do Al e pela supressão de fósforo inorgânico (Pi), cuja seqüência completa demonstrou homologia com genes que codificam para peroxidases (Ezaki *et al.* 1996). Estudos com as linhagens de milho L-36 (sensível) e a Cateto 237 (tolerante) mostraram que o Al diminuiu a atividade da peroxidase somente no ápice das raízes da linhagem sensível. Independente da presença de Al, observou-se ainda que as duas linhagens apresentavam polimorfismo para duas isoenzimas aniônicas da peroxidase no ápice radicular. Tais observações sugerem que a peroxidase faça parte de um mecanismo constitutivo que confere proteção ao tecido radicular da cultivar tolerante quando exposta ao Al (Souza *et al.*, dados não publicados).

Em *Arabidopsis thaliana*, observou-se a indução transiente de cinco genes nos ápices radiculares, poucas horas após sua exposição ao Al. Outros quatro genes, cuja transcrição aumentou por períodos de tempo mais longos, também foram isolados, enquanto outros dois genes apresentaram níveis de expressão reduzido ao longo do tratamento com Al (Richards *et al.* 1998). Alguns desses genes mostram homologia com genes induzidos pela presença de ozônio, um forte oxidante, assim como com peroxidases, BCB (*Blue Copper Binding Protein*) e GST (*Glutathione-S-transferase*), sugerindo uma relação entre a toxidez por Al e o estresse oxidativo. Na linhagem de milho Cateto 237 (tolerante), o Al induziu a expressão dos genes da ascorbato peroxidase, da metionina sintase, de uma hemoglobina, do gene vivíparo 3, de uma proteína associada com a senescência e de uma invertase da parede celular (Purcino *et al.*, dados não publicados, Embrapa Milho e Sorgo). É interessante notar que, como observado em *Arabidopsis*, alguns dos genes estão também ligados a mecanismos fisiológicos que conferem proteção contra o

estresse oxidativo, confirmando uma possível participação deste mecanismo como um componente importante da reação das plantas a níveis tóxicos de Al (Richards *et al.*, 1998).

Em trigo, genes induzidos por Al possuem elevada homologia com genes de peroxidases (*war4.2*), proteinases de cisteína (*war5.2*), fenil-amônia liase (*war7.2*) e oxalato oxidases (*war13.2*) (Hamel *et al.* 1998).

### Estratégias moleculares para aumento da tolerância ao Al em plantas

- As técnicas de DNA recombinante têm permitido a identificação de genes relacionados com a tolerância à toxidez de Al de uma série de espécies vegetais. Esses genes são os primeiros candidatos para serem mapeados em populações segregantes para a tolerância ao Al, assim como fontes para construções gênicas em teste com transgênicos. Baseando na estratégia proposta por Fuente-Martinez *et al.* (1997), onde plantas transgênicas superexpressando o gene da citrato sintase (CS) isolado da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, aumentaram os níveis de tolerância ao Al, trabalhos vêm sendo desenvolvidos na Embrapa Milho e Sorgo. Plantas de tabaco estão sendo transformadas com o gene da citrato sintase isolado de *Escherichia coli* e de cenoura (*Daucus carota*), regulados por promotores constitutivos (CaMV 35S) e raiz-específicos. O grande objetivo da pesquisa é gerar uma tecnologia que possa ser transferida para culturas de maior importância para a região do Cerrado, tais como o milho e a soja (Fig. 3 e 4).

### Referências Bibliográficas

- 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**, v.112, n.4, p.1471-1478, 1996.
- BASU, U., BASU, A., TAYLOR, G. J. Differential exudation of polypeptides by roots of aluminum-resistant and aluminum-sensitive cultivar of *Triticum aestivum* L. in response to aluminum stress. **Plant Physiology**, v.106, n.1, p.151-158, 1994.
- CANÇADO, G.M.A., LOGUERCIO, L.L., MARTINS, P.R., PARENTONI, S.N., LOPES, M.A., PAIVA, E.; BORÉM, A. Hematoxylin staining as a phenotypic index for aluminum tolerance selection in tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v.99, p.747-754, 1999.

- CANÇADO, G.M.A., PAIVA, E. Genética e Bioquímica da Tolerância de Plantas ao Alumínio. In: Inter-relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas. (Eds) José Oswaldo Siqueira et al. Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. pp : 363-388.
- CRUZ-ORTEGA, R., CUSHMAN, J. C., OWNBY, J. D. cDNA clones encoding 1,3-beta-glucanase and a fibrin-like cytoskeletal protein are induced by Al toxicity in wheat roots. **Plant Physiology**, v.114, n.4, p.1453-1460, 1997.
- DELHAIZE, E., CRAIG, S., BEATON, C. D. et al. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): I. uptake and distribution of aluminum in root apices. **Plant Physiology**, v.103, n.3, p.685-693, 1993a.
- DELHAIZE E., RYAN P. R., RANDALL P. J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. **Plant Physiology**, v.103, n.3, p.695-702, 1993b.
- EZAKI, B., TSUGITA, S., MATSUMOTO, H. Expression of a moderately anionic peroxidase is induced by aluminum treatment in tobacco cells: possible involvement of peroxidase isoenzymes in aluminum ion stress. **Physiologia Plantarum**, v.96, n.1, p.21-28, 1996.
- FUENTE-MARTÍNEZ, J., HERRERA-ESTRELLA, L. Advances in the understanding of aluminum toxicity and the development of aluminum-tolerant transgenic plants. **Advances in Agronomy**, v.66, p.103-119, 2000.
- FUENTE-MARTÍNEZ, J., RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, V., CABRERA-PONCE, J. L., HERRERA-ESTRELLA, L. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. **Science**, v.276, p.1566-1568, 1997.
- HAMEL, F.; BRETON, C.; HOUDE, M. Isolation and characterization of wheat aluminum-regulated genes: possible involvement of aluminum as a pathogenesis response elicitor. **Planta**, v.205, n.4, p.531-538, 1998.
- HAUG, A., SHI, B., VITORELLO, V. Aluminum interaction with phosphoinositide-associated signal transduction. **Archives of Toxicology**, v.68, n.1, p.1-7, 1994.
- HORST, W. J., PUSCHEL, A. K., SCHMOHL, N., MONIZ, A. C. (ED.); FURLANI, A. M. C. (ED.), SCHAFFERT, R. E. Induction of callose formation is a sensitive marker for genotypic aluminium sensitivity in maize. (ed.); Fageria, N. K. (ed.), Rosolem, C. A. (ed.), Cantarella, H. **Fourth international symposium on plant-soil interactions at low pH**, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 17-24 March 1996. **Plant-and-Soil**, 1997, 192: 1, 23-30
- HUANG J. W., PELLET D. M., PAPERNIK L. A. et al. Aluminum interactions with voltage-dependent calcium transport in plasma membrane vesicles isolated from roots of aluminum-sensitive and -resistant wheat cultivars. **Plant Physiology**, v.110, n.2, p.561-569, 1996.
- JONES, D. L., KOCHIAN, L. V. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-trisphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity? **Plant Cell**, v.7, n.11, p.1913-1922, 1995.
- JORGE, R. A., ARRUDA, P. Aluminum-induced organic acids exudation by roots of an aluminum-tolerant tropical maize. **Phytochemistry**, v.45, n.4, p.675-681, 1997.
- KOCHIAN L. V. Cellular mechanisms of aluminum resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.46, p.237-260, 1995.
- LI XF, MA JF, MATSUMOTO H. Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat. **Plant Physiology**, v.123, n.4, p.1537-1544, 2000.
- LLUGANY, M., MASSOT, N., WISSEMEIER, H. et al., Aluminium tolerance of maize cultivars as assessed by callose production and root elongation. **Z. Pflanzenernähr Bodenk.**, v.157, p.447-451, 1994.
- MARTINS, P.R.; PARENTONI, S.N.; LOPES, M.A.; PAIVA, E. Eficiência de índices fenotípicos de comprimento de raiz seminal na avaliação de plantas individuais de milho quanto a tolerância ao alumínio. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.34, p.1897-1904, 1999
- NINAMANGO-CÁRDENAS, F.E. Mapeamento de QTLs associados com a tolerância ao alumínio em milho (*Zea mays* L.). Tese Mestrado, UNESP - Jaboticabal, SP, 2000.
- PELLET, D.M.; GRUNES, L.G.; KOCHIAN, L.V. Organic acid exudation as na aluminum - tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.), **Planta**, 196:788-795, 1995.
- PIÑEROS, M.A. KOCHIAN, L. A patch-clamp study on the physiology of Aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize. Identification and characterization of Al<sup>3+</sup>-induced anion channels. **Plant Physiol**, 125: 292-305, 2001.
- RICHARDS, K.A., SCHOTT, E.J., SHARMA, Y.K., DAVIS, K.R., GARDNER, R.C. Aluminum induces oxidative stress genes in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiol**, 116: 409-418, 1998.
- RICHARDS, K. D., SNOWDEN, K. C., GARDNER, R. C. *wali6* and *wali7*: genes induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots. **Plant Physiology**, v.105, p.1455-1456, 1994.
- SHI, B., CHOU, K., HAUG, A. Aluminium impacts elements of the phosphoinositide signalling pathway in neuroblastoma cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.121, n.2, p.109-118, 1993.
- SIBOV, S.T, GASPAR, M., SILVA, M.J., OTTOBONI, L.M.M., ARRUDA, P., SOUZA, A.P. Two genes control aluminum tolerance in maize: genetic and molecular mapping analyses. **Genome**, v.42, p.1-8, 1999
- SIMMONS, C. R., LITTS, J. C., HUANG, N., RODRIGUEZ, R. L. Structure of a rice beta-glucanase gene regulated by ethylene, cytokinin, wounding, salicylic acid and fungal elicitors. **Plant Molecular Biology**, v.18, p.33-45, 1992.
- SIVAGURU M., HORST W.J. The distal part of the transition zone is the most aluminium-sensitive apical root zone of maize. **Plant Physiology**, v.116, p.155-163, 1998
- SIVAGURU, M., FUJIWARA, T., SAMAJ, J., BALUSKA, F., YANG, Z., OSAWA, H., MAEDA, T., MORI, T., VOLKMANN, D., MATSUMOTO, H. Aluminum-induced 1 $\alpha$ -B-D-Glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminum toxicity in plants. **Plant Physiology**, v.2000, p.991-1006, 2000.
- SNOWDEN, K. C., RICHARDS, K. D., GARDNER, R. C. Aluminum-induced genes: induction by toxic metals, low calcium, and wounding and pattern of expression in root tips. **Plant Physiology**, v.107, n.2, p.341-348, 1995.
- SNOWDEN, K. C., GARDNER, R. C. Five genes induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots. **Plant Physiology**, v.103, n.3, p.855-861, 1993.
- TAYLOR, G.J. Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminium resistance. **Plant Soil**, 171:89-103, 1991.
- ZHANG, G., HODDINOT, J., TAYLOR, G. J. Characterization of 1,3-b-D-glucan (callose) synthesis in roots of *Triticum aestivum* in response to aluminum. **Journal of Plant Physiology**, v.144, n.3, p.229-234, 1994.