



RUY RAPOSEIRAS, VERA M.C. ALVES, ISABEL R.P.SOUZA, JURANDIR V. DE
MAGALHÃES, CLÁUDIA T. GUIMARÃES, IVANILDO E. MARRIEL e ROBERT E.
SCHAFFERT

Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, 35701-970, Sete Lagoas, MG –
vera@cnpms.embrapa.br
Suporte financeiro: Mc Knight Foundation

Introdução

O desenvolvimento de cultivares adaptados a solos ácidos é fundamental para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas no País, visto que 68% do território brasileiro é formado por solos com limitações de natureza química, como elevada acidez, toxidez de Al e baixa disponibilidade de fósforo. Quando o pH do solo encontra-se abaixo de 5, o Al^{+3} é solubilizado na solução do solo, e esta parece ser a mais importante espécie rizotóxica de Al. Estudos tem mostrado que o efeito primário da fitotoxidez ao alumínio está localizado na região meristemática do ápice das raízes, ou seja, local onde há maior produção de mucilagem. Diversos estudos tem sido desenvolvidos sobre a função e as propriedades da mucilagem que recobre a coifa da raiz. Em milho, a mucilagem consiste de grandes polímeros, maiores que 2×10^6 Da, principalmente de glicose, galactose, ácido urônico e fucose (Harris & Northcote, 1970, citados por Puthota et al., 1991). Fucose compreende cerca de 20 a 30% dos açúcares da mucilagem do milho, mas está presente em pequenas quantidades em outras espécies. Trabalhos prévios com essa cultura sugerem que o Al interfere com a migração das vesículas secretórias dos dictosomas para a plasmalema e com o desenvolvimento e morfologia dos dictosomas na coifa da raiz (Bennet et al., 1985). Dentre as funções propostas para a mucilagem tem-se a proteção da coifa contra a dissecação, aumento do contato da raiz com o solo e barreira de proteção contra agentes tóxicos, incluindo os metais. Além disso, tem sido postulado que substâncias presentes na mucilagem se ligam ao alumínio representando uma barreira físico-química restringindo o movimento interno deste elemento (Henderson and Ownby, 1991), podendo constituir-se também em um mecanismo de tolerância, por meio da exclusão do alumínio do simplasto (Taylor, 1991). Entretanto estudos desenvolvidos até o momento têm apresentado resultados controversos. Horst et al. (1982) demonstraram que em caupi a remoção da mucilagem antes do tratamento com Al facilitou a

acumulação deste metal nos ápices das raízes, com conseqüente aumento da toxidez. Entretanto, em milho, Li et al. (2000), verificaram que embora a mucilagem tenha afetado a acumulação de Al pelas raízes, ela não conferiu tolerância ao Al. O papel protetor da mucilagem é dificultado pela falta de evidências na indução ou aumento de sua secreção por Al. Ao contrário, o desaparecimento da mucilagem é um dos primeiros sintomas visuais de toxidez de Al. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do Al sobre a produção de mucilagem pelo ápice radicular em genótipos de milho tolerantes e sensíveis a este elemento.

Material e Métodos

Sementes de duas linhagens parentais de milho, sendo uma sensível (L53) e outra tolerante (Cateto AL 237) ao Al e de oito linhagens recombinantes (L35, L199, L98, L28 - sensíveis e L22, L175, L176, L188 – tolerantes), provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de concentração, por 15 min, lavadas com água deionizada e colocadas para germinar em rolos de papel toalha, parcialmente imersos em água deionizada, durante 4 dias. Após esse período, plântulas de cada linhagem foram transferidas para bandejas plásticas contendo 8,5 L de solução nutritiva de Clark, adaptada por Magnavaca (1982), pH 4.2, por 24 horas. Quarenta e oito, vinte e quatro, doze e quatro horas antes da colheita do experimento, foi adicionado 39 μM de Al, na forma de $\text{Al}_2\text{K}(\text{SO}_4)$, de modo que ao final do experimento todas as plântulas apresentassem a mesma idade fisiológica, nos diferentes tratamentos com Al (0, 4, 12, 24 e 48 horas com Al). Ao final do experimento foram coletados cinco ápices de raízes, de cada linhagem, por tratamento para observação da mucilagem do ápice radicular. Foto documentação dos ápices de raiz, na magnificação de 40x, foi obtida por meio de microscópio estereoscópio Stemi SV6 Zeiss com máquina fotográfica acoplada. Nos parentais também foram coletados ápices radiculares para observação e foto documentação. A preparação dos ápices radiculares para observação em microscópio ótico Zeiss-Axioplan, constou de fixação em tampão Milloning, contendo 2,5% de glutaraldeído, pós-fixação em tetróxido de ósmio 1%, desidratação em série álcool-acetona, inclusão em resina *Spurr*, contração com fuccina básica, após secção (1 μm) em ultramicrotomo. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento com temperatura diurna de 27°C e noturna de 20°C, luminosidade de 540 $\mu\text{molm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, umidade relativa de 70% e fotoperíodo de 12h.

Resultados e Discussão

Foto documentação em microscópio estereoscópio e ótico dos ápices radiculares dos genótipos estudados após 0, 4, 12, 24 e 48 horas de exposição ao Al indicaram que o parental tolerante Cateto AL 237, apresentou mucilagem em todos os tempos estudados, com indução visível nos tempos de 4 e 12 horas (Figura 1). Ao contrário, o parental sensível L53, além de apresentar muito pouca mucilagem no tempo zero de exposição ao Al, reduziu sua já produção após 4 horas (Figura 2). Comportamento semelhante foi observado nas linhagens recombinantes desenvolvidas a partir do cruzamento das parentais Cateto AL 237 e L53 (Figura 3). As quatro linhagens recombinantes tolerantes ao Al (L22, L175, L176, L188), apresentaram volume significativo de mucilagem no tempo zero e pelo menos até 24 horas após a exposição a este elemento. Já as quatro linhagens sensíveis (L35, L199, L98, L28) apresentaram pequeno volume de mucilagem no ápice radicular no tempo zero de exposição, o qual perdurou no máximo até 12 horas. Henderson & Ownby (1991) trabalhando com 11 cultivares de trigo também verificaram boa correlação entre tolerância ao alumínio e o volume de mucilagem no ápice radicular. Estes autores formularam a hipótese de que em solução nutritiva a mucilagem cria uma região relativamente sem agitação ao redor do ápice radicular, na qual ocorre uma difusão muito mais lenta do Al, em relação à solução nutritiva externa e de que a mucilagem também poderia ter um papel importante na ligação do alumínio a ácidos orgânicos e outras substâncias quelantes exsudadas pelo ápice radicular. Segundo eles, na ausência de mucilagem esses quelantes orgânicos exsudados pelas raízes seriam rapidamente dissipados na solução nutritiva que banha as raízes. A mucilagem, por dificultar a difusão, formaria uma região de alta concentração de ácidos orgânicos onde o Al seria quelado e impedido de reagir com a superfície celular, atuando assim como um mecanismo de exclusão. Genótipos que apresentassem baixa taxa de exsudação de ácidos orgânicos ou de outros quelantes orgânicos, mesmo com alta produção de mucilagem seriam sensíveis ao Al. Assim a hipótese por eles formulada associaria dois mecanismos de tolerância ao Al: produção de mucilagem e exsudação de quelantes orgânicos. Embora preliminares, os resultados obtidos com milho parecem reforçar esta hipótese, haja vista que a linhagem Cateto AL 237, classificada como muito tolerante ao Al apresenta uma taxa de exsudação de ácido cítrico cerca de duas vezes menor que a da linhagem L3, classificada como tolerante intermediária (dados não mostrados). Em compensação, a linhagem Cateto AL 237 produz mais mucilagem que a linhagem L3.

Literatura Citada

- BENNET, R.J.; BREEN, C.M.; FEY, M.V. The primary site of aluminum injury in the root of *Zea mays* L. S. Afr. J. Plant Soil, 2: 1-7, 1985.
- HENDERSON, M.; OWNBY, J.D. The role of root cap mucilage secretion in aluminum tolerance in wheat. Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology, 10: 134-141, 1991.
- HORST, W.J.; WAGNER, A.; MARSCHNER, H. Mucilage protects root meristems from aluminium injury. Z. Pflanzenphysiol. Bd., 105:435-444, 1982.
- LI, X.F.; MA, J.F.; HIRADATE, S.; MATSUMOTO, H. Mucilage strongly binds aluminum but does not prevent roots from aluminum injury in *Zea mays*. Physiologia Plantarum, 108:152-160, 2000.
- MAGNAVACA, R. Genetic variability and the inheritance of aluminum tolerance in mayze (*Zea mays* L.). 1982. Thesis (PhD)-Lincoln, Nebraska.

PUTHOTA, V.; CRUZ-ORTEGA, R.; JOHNSON, J.; OWNBY, J. Na ultrastructural study of the inhibition of mucilage secretion in the wheat root cap by aluminium. In: Wright, R.J. et al.(Eds), Plant-soil interactions at low pH, 779-787, 1991.
 TAYLOR, G.J. Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminium resistance. Plant Soil, 171:89-103, 1991.

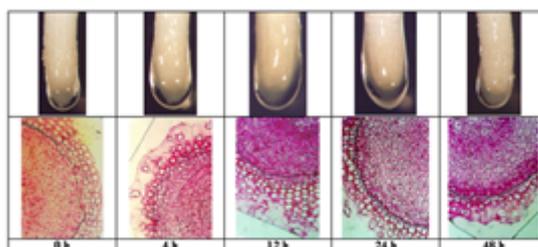


Figura 1. Foto documentação em microscópio estereoscópio (magnificação de 40 x) e ótico (magnificação de 400 x) de ápices de raízes da linhagem parental de milho Cateto AL 237, tolerante ao alumínio, após 0, 4, 12, 24 e 48 horas de exposição a este elemento.

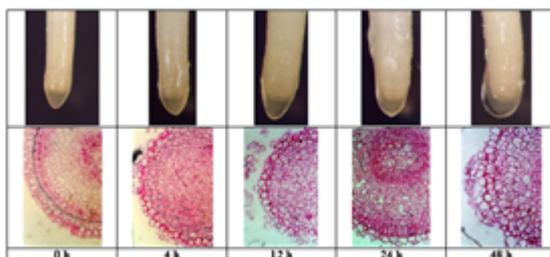


Figura 2. Foto documentação em microscópio estereoscópio (magnificação de 40 x) e ótico (magnificação de 400 x) de ápices de raízes da linhagem parental de milho L53, sensível ao alumínio, após 0, 4, 12, 24 e 48 horas de exposição a este elemento.



Figura 3. Imagens de ápices radiculares de linhagens recombinantes de milho tolerantes e sensíveis ao alumínio após 0, 4, 12, 24 e 48 horas de exposição a este elemento.

