

## Efeitos do Alumínio em Solução sobre o Desenvolvimento Radicular de Variedades de Milho (*zea mays*)<sup>(1)</sup>.

**Jacqueline Aparecida Malvestiti<sup>(2,6)</sup>; Larissa Marques Viglio<sup>(3,6)</sup>; José Carlos Casagrande<sup>(4,6)</sup>; Marcio Roberto Soares<sup>(5,6)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UFSCar.

<sup>(2,3,6)</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Mestrandas, Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, jacqueline.malvestiti@cca.ufscar.br; larissa.viglio@gmail.com; <sup>(4)</sup> Professor Associado, Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental – DRNPA, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, bighouse@ufscar.br; <sup>(5)</sup> Professor Adjunto, Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental – DRNPA, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, mrsoares@cca.ufscar.br; <sup>(6)</sup> Rodovia Anhanguera, km 174, CEP 13600-970, Araras, SP.

**RESUMO:** A influência da toxidez por Al sobre o desenvolvimento do sistema radicular e na absorção de nutrientes, típica de solos ácidos, tem sido apresentada como uma das principais causas da baixa produtividade de muitas culturas de interesse econômico. Os objetivos deste estudo foram: avaliar o desenvolvimento radicular das variedades de milho Dow 2B655, AG 8061 pro e DKB 747 em solução nutritiva com diferentes condições de estresse por Al (0, 50, 100, 200, 400 e 600  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), e examinar alterações morfológicas nas raízes através de microscopia óptica. O experimento foi conduzido em condições de laboratório, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os resultados de taxa de crescimento radicular ( $\text{cm dia}^{-1}$ ) foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Parâmetros morfológicos do Al nos tecidos radiculares foram explorados por registro fotográfico das observações ao microscópio óptico. O aumento da concentração de Al em solução causou diminuição da taxa de alongamento radicular de todas as variedades. A concentração crítica de Al em solução, e que resultou em decréscimos significativos na taxa de alongamento radicular das plântulas foi de 100  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ . As principais alterações morfológicas das raízes, ou seja, a produção de calose, o colapso e a deformação da coifa, foram causadas a partir de 400  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ , para todas as variedades. A biometria das raízes, aliada ao exame visual por meio de microscopia óptica indicaram que a variedade AG 8061 apresentou maior tolerância ao Al em solução.

**Palavras-chave:** Melhoramento genético, fitotoxidez por alumínio.

### INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho (*Zea mays*), ficando atrás dos Estados Unidos, com produtividade média duas vezes maior, e da China (Conab, 2013).

Uma das principais limitações dos cultivos agrícolas nos trópicos e, por consequência, do incremento da produção de alimentos nesta região, está relacionada à ocorrência de solos ácidos, que ocupam cerca de 3 bilhões de hectares da superfície terrestre (Von Uexkull & Mutert, 1995).

Aproximadamente 70% do território brasileiro são cobertos por solos ácidos e, em 40%, a produtividade das culturas está reduzida à metade (Quaggio, 2000). A acidez do solo, e principalmente o efeito tóxico do Al, é reconhecida como uma das principais causas das limitações da cultura do milho em regiões tradicionais na produção de grãos e, com mais notoriedade, em regiões como o Cerrado.

Neste contexto, a busca de variedades produtivas, tolerantes à acidez do solo e com capacidade para emitir raízes em subsolos com Al em níveis tóxicos, surge como alternativa importante dentro das estratégias de manejo dos solos ácidos (Foy, 1997; Delhaize & Ryan, 1995; Braccini et al., 2000ab; Silva et al., 2002).

A identificação de variedades tolerantes ou sensíveis pode contribuir para sistemas sustentáveis de produção, já que a seleção de genótipos tolerantes às condições restritivas de fertilidade do solo, com ênfase aos atributos de subsuperfície limitantes à expansão do sistema radicular, pode maximizar a eficiência de utilização dos insumos e minimizar o risco imposto pela combinação de diversas características restritivas do ambiente que impedem a máxima expressão genética das variedades.

O objetivo geral do trabalho foi avaliar o desenvolvimento radicular das variedades de milho em solução nutritiva com diferentes condições de estresse por Al.

### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em condições de laboratório, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), *campus* de Araras-SP da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Foram utilizadas 3 variedades de milho.

A pré-germinação das sementes foi feita em cartuchos de papel germiteste, colocados na posição vertical em recipientes de vidro, com a base imersa em solução de  $\text{CaCl}_2$   $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ . Os cartuchos foram mantidos em câmara de germinação, à temperatura de  $30^\circ\text{C}$  e fotoperíodo ininterrupto, até que as raízes atingissem 5-10 cm de comprimento.

As plântulas foram aclimatadas em tanques com solução nutritiva preparada com fundamento nos teores foliares de nutrientes considerados adequados para a cultura. O sistema foi mantido sob arejamento contínuo da solução, por borbulhamento de ar suprido por moto-compressor, e sob iluminação artificial permanente de 5000 lux.

Após o período de dois dias de imersão em solução nutritiva, foram selecionadas, para cada variedade, 30 plântulas com uniformidade radicular, as quais foram submetidas a 6 tratamentos com Al, com 4 réplicas cada.

O experimento de exposição do sistema radicular das plântulas de milho a condições de estresse por Al foi desenvolvido em recipientes de PVC rígido, de 10 cm de diâmetro, 20 cm de altura e capacidade de 1,6 L. As plântulas foram transferidas para os recipientes contendo solução nutritiva e doses crescentes de Al, fornecido na forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  nas concentrações de 0, 50, 100, 200, 400 e  $600 \mu\text{mol L}^{-1}$ , escolhidas conforme Alves et al. (2002), para constituírem os tratamentos T1 (testemunha), T2, T3, T4, T5 e T6, respectivamente. O pH da solução nutritiva contendo Al foi ajustado para 4,0 diariamente com  $\text{HCl}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  para garantir o predomínio da espécie livre trivalente de Al [ $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ ] (Rossiello & Jacob Neto, 2006). As raízes ficaram expostas à solução contendo Al por cinco dias. Após este período, as plântulas tiveram suas raízes medidas, efetuando-se assim, as devidas análises.

### Análise estatística

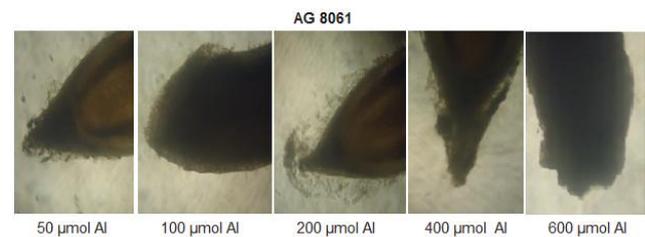
O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial  $6 \times 3$  (6 concentrações de Al em solução e 3 variedades de milho), com quatro réplicas. Os resultados da taxa de alongamento radicular foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de *Tukey*, ao nível de 5% de significância.

A tolerância das variedades ao Al em solução foi avaliada pelos resultados da taxa de alongamento radicular e pelos parâmetros morfológicos dos ápices radiculares explorados na forma de imagens por registro fotográfico das observações ao microscópio óptico.

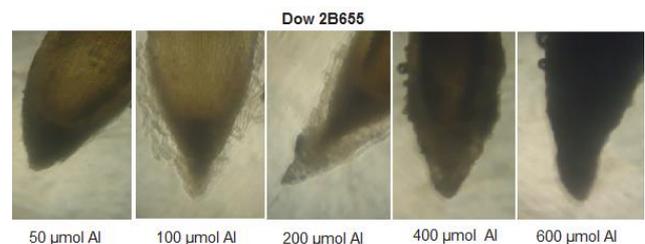
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variedades testadas apresentaram injúrias típicas, tais como o aspecto retorcido, deformado e quebradiço das raízes.

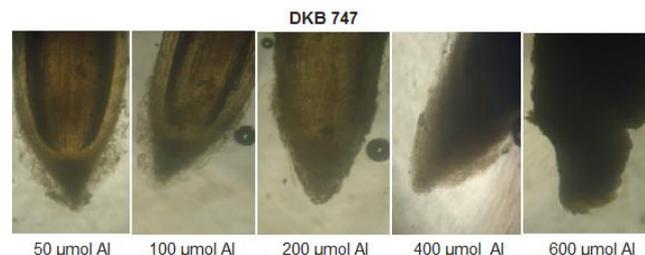
Para ilustração dos efeitos do  $\text{Al}^{3+}$  sobre a morfologia externa dos ápices radiculares, amostras das variedades de milho foram removidas, após 5 dias de permanência em solução contendo doses crescentes de Al (0, 50, 100, 200, 400 e  $600 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), lavadas em água destilada, cortadas e, logo em seguida, observadas em microscópio óptico (Figuras 1, 2 e 3).



**Figura1.** Ápices radiculares da variedade AG 8061 de milho sob microscópio óptico (ampliação 10 x) após exposição a concentrações crescentes de Al em solução.



**Figura2.** Ápices radiculares da variedade Dow 2B655 de milho sob microscópio óptico (ampliação 10 x) após exposição a concentrações crescentes de Al em solução.



**Figura3.** Ápices radiculares da variedade DKB 747 de milho sob microscópio óptico (ampliação 10 x) após exposição a concentrações crescentes de Al em solução.

A coifa das raízes das variedades começou a ser afetada na concentração de  $400 \mu\text{mol}$  de  $\text{Al L}^{-1}$ . A variedade DKB 747 apresentou deformações na coifa somente quando exposta à concentração mais elevada de Al em solução ( $600 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Como a coifa tem a função de proteger o meristema apical de lesões mecânicas (Taiz & Zeiger, 2004), sobretudo pela excreção de mucilagens, sua deterioração prejudica o meristema apical das raízes. Kochian (1995) & Sivaguru & Horst (1998), constataram que após a exposição à doses mais elevadas de Al, ocorrem rapidamente

atrofias e injúrias no meristema radicular, especificamente na parte distal da zona de transição no ápice das raízes, onde as células estão entrando em fase de alongamento, que é o sítio da ação tóxica do alumínio. Utilizando microscopia eletrônica, Eleftherios et al. (1993) também observaram que os efeitos mais intensos da toxicidade causada pelo  $Al^{+3}$  no sistema radicular ocorrem nas paredes celulares da epiderme e nas células da coifa.

Houve formação de calose na extremidade das raízes, principalmente, quando as raízes foram expostas à  $600 \mu mol$  de  $Al L^{-1}$ . Calose é um acúmulo de poliglicosídeo na parede celular em resposta das plantas a diversos tipos de estresses (Taiz & Zeiger, 2004). A formação induzida de calose pelo Al, particularmente em ápices radiculares, foi considerado por Eticha et al. (2005) a injúria fisiológica mais sensível à presença do Al, atuando ainda como indicador de diferenças genotípicas de sensibilidade ao Al por plantas de milho. Além da produção de calose, as raízes afetadas pelo Al apresentaram mudanças estruturais na coifa, bem como mudanças na curvatura da raiz, ou seja, um conjunto de sintomas muito semelhante ao observado por Eleftherios et al (1993).

Constatou-se também que, após exposição das plantas ao  $Al^{+3}$  por cinco dias, houve atrofiamento e desintegração de tecidos da epiderme nos ápices das raízes das quatro variedades, na concentração de  $600 \mu mol L^{-1}$ .

As variedades Ag 8061, Dow 255 e DKB de milho apresentaram decréscimo na taxa de alongamento radicular quando submetidas a concentrações crescentes de Al em solução. A variedade Ag 8061 destacou-se quanto à tolerância ao Al em solução, enquanto as variedades Dow 255 e DKB foram mais sensíveis.

Os resultados da taxa de alongamento radicular foram submetidos à análise de variância (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância (ANOVA) de taxa de alongamento radicular de plântulas de variedades de milho submetidas à concentrações crescentes de Al em solução.

Causas de variação	GL	Valor F
Variedade	2	18.99726 **
Concentração de Al	5	92.29274 **
Variedade x Al	10	1.434697 ns
Resíduo	54	
Total	71	

Significância: \*\* 1%; ns: não significativo.

Houve alta significância estatística para a influência isolada dos fatores testados. Portanto, o teste de comparação de médias (Tukey a 5%) foi aplicado somente para variedades (Tabela 2) e para concentração de Al em solução (Tabela 3). Não foi aplicado o teste de comparação de médias para a

interação dos fatores, já que, pelo teste F, não houve significância estatística (Tabela 1).

**Tabela 2.** Média geral da taxa de alongamento radicular de plântulas de cada variedade de milho, submetidas ao Al em solução.

Variedades	Média da TA radicular (cm / 5 dias)
Ag 8061	4,7167 a
Dow 2B655	3,4801 b
DKB 747	3,9667 b

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

A variedade Ag 8061 apresentou taxa de crescimento radicular estatisticamente superior às variedades Dow 655 e DKB 747, implicando em maior tolerância da primeira em relação as demais ao Al em solução.

**Tabela 3.** Médias de taxa de alongamento radicular de plântulas de variedades de milho em resposta à cada concentração de Al em solução.

Concentração de Al ( $\mu mol L^{-1}$ )	TAR (cm / 5 dias)
0	7,125 a
50	6,658 a
100	4,553 b
200	3,737 b
400	2,500 c
600	0,895 d

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Decréscimos significativos na taxa de alongamento radicular das plântulas de milho foram observados a partir da concentração de  $100 \mu mol Al L^{-1}$  (Tabela 3), considerado, neste estudo, valor crítico a partir do qual tem início a influência do Al sobre o desenvolvimento radicular inicial de plântulas de milho. Essa concentração crítica aponta para a provável suscetibilidade das variedades de milho estudadas às concentrações iônicas de Al típicas na solução de solos ácidos, que normalmente estão entre  $150$  e  $200 \mu mol L^{-1}$  (Rossiello & Jacob Netto, 2006). Mazzocato et al. (2002) constataram que a concentração crítica de Al em solução foi de  $200 \mu mol L^{-1}$  e sugeriram a concentração de  $162 \mu mol$  de  $Al L^{-1}$  como a mais adequada para caracterização de tolerância em híbridos de milho.

## CONCLUSÕES

Para as variedades de milho Dow 2B655, AG 8061 e DKB 747, nas condições experimentais em que este estudo foi conduzido, concluiu-se que: o aumento da concentração de Al em solução causou diminuição da taxa de alongamento radicular ( $cm dia^{-1}$ ); a concentração crítica de Al em solução para

a taxa de alongamento radicular foi de 100  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ ; as principais alterações morfológicas das raízes, ou seja, a produção de calose e o colapso e a deformação da coifa, iniciaram a partir da concentração crítica de 400  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ ; a biometria das raízes, aliada ao exame visual por meio de microscopia óptica indicaram que as variedades Dow 2B655 e DKB 747 foram as mais sensíveis ao Al em solução.

## REFERÊNCIAS

- BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; BRACCINI, A.L. Avaliação de linhagens de cafeeiros quanto à tolerância ao alumínio pelo método do papel-solução. *Bragantia*, 59:221-226, 2000a.
- BRACCINI, M.C.L.; Martinez, H.E.P.; SILVA, E.A.M.; BRACCINI, A.L.; Scapim, C.A. Crescimento da planta e coloração das raízes com hematoxilina como critérios de avaliação de genótipos de café quanto à tolerância à toxidez por alumínio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 24:59-68, 2000b.
- COMPANHIA NACIONAL de ABASTECIMENTO. Sexto Levantamento safra brasileira de grãos 2012/2013. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_03\\_07\\_10\\_39\\_19\\_levantamento\\_safras\\_graos\\_6.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_07_10_39_19_levantamento_safras_graos_6.pdf)>. Acesso em: mar/2013.
- 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*, Rockville, 103: 695-702, 1993.
- ELEFTHERIOU, P.E.; MOUSTAKAS, M.; GRAGISKOS, N. Aluminate-induced changes in morphology and ultrastructure of *Thinopyrum* roots. *Journal of Experimental and Botany*, London, 44: 427-436, 1993.
- ETICHA, D.; Stab, A.; HORST, W.J. Localization of aluminium in the maize root apex: can morin detect cell wall-bound aluminium. *Journal of Experimental Botany*, 56: 1351-1357, 2005.
- FOY, C.D. Effects of aluminum on plant growth. In: Carson, E.W. (Ed.). *The plant root and its environment*. Charlottesville: University Press of Virginia, 1997. p. 601-642.
- KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, 46:237-260, 1995.
- MAZZOCATO, A.C.; ROCHA, P.S.G.; SERENO, M.J.C.M.; BOHNEN, H.; GRONGO, V.; NETO, J.F.B. Tolerância ao alumínio em plântulas de milho. *Ciência Rural*, 32:19- 24, 2002.
- QUAGGIO, J.A. Acidez e calagem em solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2000. 111p.
- ROSSIELLO, R.O.P.; JACOB NETTO, J. Toxidez de alumínio em plantas: novos enfoques para um velho problema. In: Fernandes, M.S. (Ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.375-418.
- SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. Physiological aspects of aluminum toxicity and tolerance in plants. In: Alvarez V., V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F. de; Mello, J.W.V de; Costa, L.M. da. *Tópicos em Ciência do Solo*, 2002. p.277-335.
- SIVAGURU, M. and WJ Horst. The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize. *Plant Physiol*. 116:155-163, 1998.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.449-484.
- VON UEXKÜLL, H. R.; MUTERT, E. Global extend, development and economic – impact of acid soils. *Plant and Soil*, Dordrecht, 171:5-19, 1995.