

# Tolerância ao alumínio em arroz de sequeiro: exudação de ácidos orgânicos e crescimento radicular

Karlos Antonio Chagas<sup>1</sup>; Nilton Nélio Cometti<sup>2</sup>; Rosane Nora Castro<sup>3</sup>;  
Marcos Gervasio Pereira<sup>4</sup>; Everaldo Zonta<sup>4</sup>

1. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq/UFRuralRJ, Discente do Curso de Agronomia; 2. Professor da Escola Agrotécnica Federal de Colatina, BR 259, km 70, Colatina, ES; 3. Professor do Instituto de Ciências Exatas da UFRuralRJ; 4. Professor do Instituto de Agronomia da UFRuralRJ, BR 465, km 07, Seropédica, RJ.

Palavras-chave: Al-Tolerância; Arroz de sequeiro; Crescimento radicular, Alumínio

## Resumo

O objetivo deste estudo foi de verificar o efeito amenizador do alumínio (Al) por ácidos orgânicos, em arroz sequeiro. Um experimento foi montado com duas variedades de arroz: Caiapó e Comum Branco, tolerante e altamente tolerante ao Al, respectivamente. O Al foi aplicado na dose de 160  $\mu\text{mol}$ , capaz de reduzir área e o comprimento radicular significativamente. A maior taxa de exudação e acumulação de ácidos orgânicos foi observada na variedade Comum Branco.

## Abstract

The objective of this study was to verify aluminium (Al) toxicity amelioration by organic acids on rice dryland. An experiment was carried out with two rice dryland varieties: Caiapó and Comum Branco, Al-tolerant and highly Al-tolerant, respectively. The Al dose applied was 160  $\mu\text{mol}$  capable to reduce significantly area and length radicular. The highest exudation rate and organic acid accumulation was observed at Comum Branco variety.

## Introdução

A exudação de ácidos orgânicos tem sido um dos mecanismos apontados como responsáveis pela tolerância ao alumínio de uma grande parte das plantas cultivadas (Ma *et al*, 2001, Ryan *et al*, 2001, Zheng *et al*, 1998), porém, é escassa a informação disponível sobre o mecanismo de tolerância no arroz, e inexistente a informação se a detoxificação seria externa ou interna nesta cultura. Aliás, as informações como um todo a respeito de mecanismos efetivos de tolerância ao

Al em arroz são escassos. Como ponto de partida, podemos postular uma hipótese de trabalho admitindo a existência do mecanismo e ainda considerar que a atuação conjunta de mecanismos externos e internos de detoxificação por meio de ácidos orgânicos, onde, as cultivares resistentes, inicialmente, a fim de garantir a expansão radicular, ativaria os mecanismos de exclusão simplástica, e posteriormente a complexação interna garantiria a manutenção do desenvolvimento das raízes secundárias, terciárias e de menor ordem, pois, no surgimento destas, há rompimento das barreiras de proteção da raiz principal, por onde o Al poderia ter contato mais íntimo com as células que estão em processo de divisão e/ou alongação. Este trabalho teve por objetivo avaliar a magnitude do efeito complexante de ácidos orgânicos em arroz de sequeiro.

## Material e Métodos

Foram conduzidos 2 experimentos em condições de câmara de crescimento, com fotoperíodo de 14/10 horas, 250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa, e temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . Utilizando-se as variedades de arroz de sequeiro Comum Branco e Caiapó, altamente tolerante e tolerante ao Al, respectivamente, crescidas em solução nutritiva, por 4 e 15 dias. A solução nutritiva e o protocolo para cultivo das plantas utilizado foram os elaborados por Zonta (2003). No primeiro experimento, as plantas foram crescidas na presença de 0, 40, 160 e 320  $\mu\text{mol}$  de Al, pelos tempos acima expostos, com o objetivo de se verificar qual a dose de Al era suficiente para reduzir significativamente o desenvolvimento radicular em ambas as

cultivares. O segundo experimento constou da quantificação da exudação de ácidos orgânicos e da determinação do conteúdo interno dos mesmos quando a submissão ao Al ou não. Para tal, aos 4 e 15 dias de exposição ao Al, foram coletados 200 mL de amostra da solução nutritiva, bem como o sistema radicular das plantas. As amostras da solução tiveram seus volumes reduzidos 10 vezes no rotavapor a 50°C sob vácuo, e foram armazenadas em frascos âmbar na geladeira a 5°C. Procedia-se então a filtragem em membrana 0,47 µm e um volume de 50 µL foi injetado num sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As raízes eram preparadas metodologia proposta por Silva *et al* (2001). Da fração de interesse, foram injetados (10 µL) dos extratos no sistema CLAE (Perkin Elmer, Norwalk, CO, USA) constituído de uma bomba LC200, um detector LC785A UV/VIS e um auto amostrador ISS 200, sendo os dados cromatográficos e espectrais recolhidos em integrador PE Nelson modelo 1022. A coluna utilizada foi de troca iônica (300 x 7,8 mm, SUPELCOGEL C-610), e, como fase móvel empregou-se uma solução de ácido fosfórico 0,1%, de grau espectroscópico com velocidade de fluxo de 0,5 mL/min. O tempo total de corrida foi de 25 minutos e após esse tempo aumentou-se o fluxo para 1,0 mL/min, para lavar o sistema. A detecção foi realizada a 211 nm. Os dados foram tratados como um experimento fatorial, tendo como fatores Cultivares (2) e doses de Al (2) com 3 repetições.

## Resultados e Discussão

O tempo de exposição de quatro dias (4d) ao Al afetou significativamente ( $p < 0,05$ ) o desenvolvimento da área radicular total (ART) e o comprimento radicular total (CRT) das variedades de arroz de sequeiro Caiapó e Comum Branco para todos os níveis de Al. A variedade Caiapó apresentou uma maior redução de ART (até 60%), quando comparada à variedade mais tolerante (Comum Branco), que apresentou uma redução máxima de 30%. No mesmo período de exposição, o CRT também foi reduzido significativamente em maior proporção na variedade Caiapó, chegando a reduções de 70%, quando comparada com plantas não expostas ao Al. A variedade Comum Branco apresentou uma redução menos intensa, sendo no máximo 20% quando as plantas foram expostas ao Al. Aos 15 dias de exposição ao Al, ambas

variedades apresentaram significativas, porém menor redução de ART, quando estudado o efeito do Al. Entre variedades, o parâmetro ART não mostrou diferença significativa. A ausência de diferença entre as variedades deveu-se em grande parte à uma retomada de crescimento da variedade Caiapó nesse período mais longo de exposição ao Al (15d), já que a redução relativa (RR) da ART foi menos intensa. As variedades apresentaram diferenças significativas no tocante ao CRT quando da exposição ao Al. Para Caiapó foi verificada uma redução de até 19%, para as doses de 160 e 320 µmol, quando comparada com Comum Branco. Ramos *et al* (1998) havia alertado para essa capacidade de retomar o crescimento na variedade Caiapó, encontrando respostas próximas às apresentadas.

Em relação aos ácidos exudados pelas raízes das plântulas em um período de quatro dias de cultivo em solução nutritiva tanto na presença como na ausência de Al, a cultivar comum branco exudou uma quantidade significativamente maior de ácido cítrico quando confrontada com a cultivar Caiapó da ordem de 42,1% na presença e 30,1% na ausência de Al (Figura 3). Pode-se ainda notar que a cultivar Comum Branco exudou no mesmo período e na presença de Al, 0,884 µmol deste mesmo ácido a mais que a cultivar caiapó; com base em tais dados podemos dizer que a comum branco manteve no período uma taxa de aproximadamente 9,2 nmol de ácido cítrico planta<sup>-1</sup> hora<sup>-1</sup>, maior que Caiapó. Podemos notar que a cultivar mais tolerante exudou no período 1,381 µmol de ácido cítrico planta<sup>-1</sup>, o que nos leva a uma taxa de 14,38 nmol planta<sup>-1</sup> hora<sup>-1</sup>.

Foi detectada também a presença de oxalato que nestas condições não apresentou diferenças significativas, conforme pode ser visto na Figura 3. A respeito do ácido málico, notou-se uma diferença significativa em seu conteúdo na presença de Al. Ao contrário do que ocorreu com o uso do ácido cítrico, as duas cultivares responderam em mesma quantidade, não diferindo significativamente entre si na presença de Al. Em um período de 15 dias de exposição ao Al, mantiveram-se as tendências de exudação, o oxalato continuou sendo exudado pela caiapó e comum branco tanto na presença como na ausência de Al, e ainda em quantidades não significativas, mas notou-se quantidades até 7 vezes maiores em decorrência do maior tempo de cultivo (Figura 4).

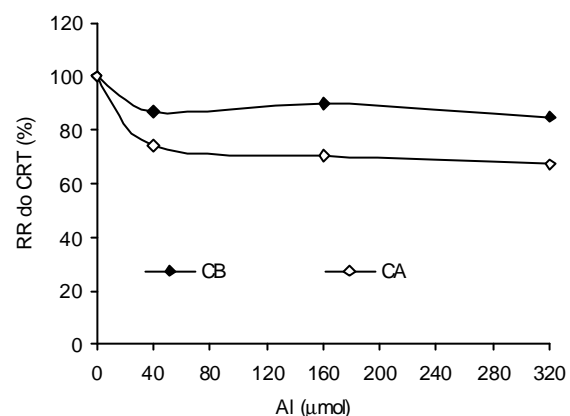
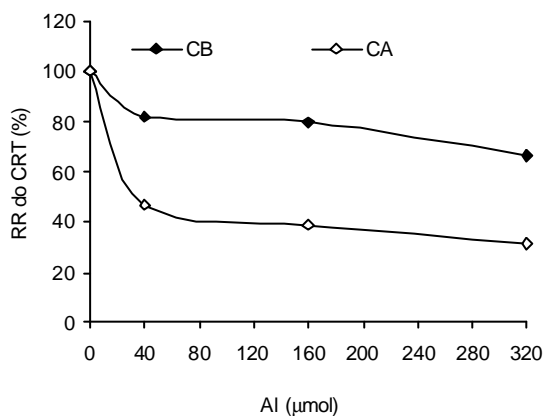
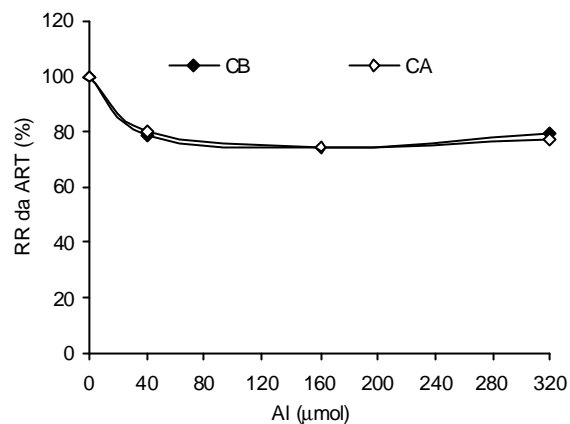
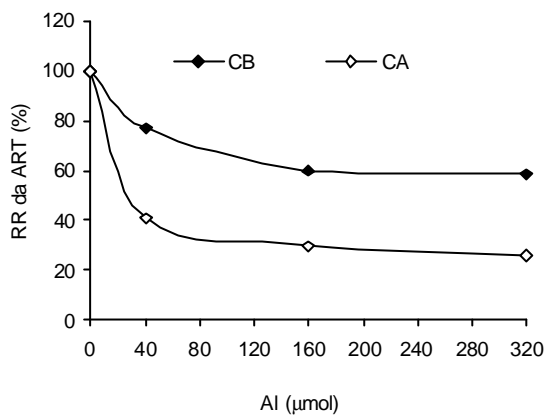


Figura 1. Redução relativa da área (ART) e do comprimento (CRT) radicular total das variedades de arroz de sequeiro Comum Branco (CB) e Caiapó (CA) em período de 4 dias de exposição ao Al.

Figura 2. Redução relativa da área (ART) e do comprimento (CRT) radicular total das variedades de arroz de sequeiro Comum Branco (CB) e Caiapó (CA) em período de 15 dias de exposição ao Al.

Houve um aumento de 304% na quantidade de ácido cítrico detectado na cultivar altamente tolerante quando esta foi submetida ao Al. Na cultivar caiapó foi encontrado um aumento de 228% na quantidade deste mesmo ácido quando comparada com a sua testemunha (ausência de Al). Nota-se também, na cultivar comum branco, uma taxa de exudação de 19,9 nmol de ácido cítrico planta<sup>-1</sup> hora<sup>-1</sup>, sendo esta taxa muito maior que a observada em um período de exposição menor ao Al.

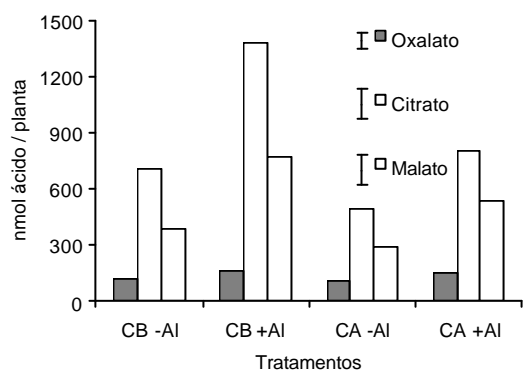


Figura 3. Exudação de ácidos orgânicos pelos cultivares de arroz Comum Branco (CB) e Caiapó (CA), na presença (+) ou ausência (-) de Alumínio (Al), por um período de 4 dias de exposição ao elemento. A barra ao lado da legenda indica a DMS para cada ácido, respectivamente.

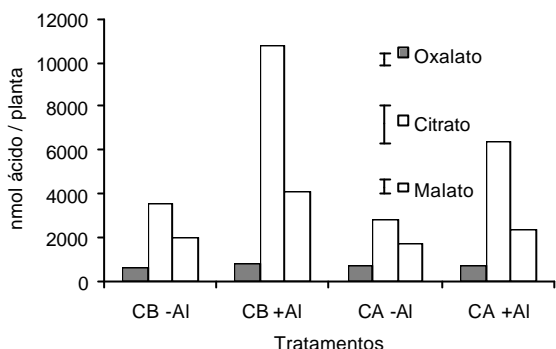


Figura 4. Exudação de ácidos orgânicos pelos cultivares de arroz Comum Branco(CB) e caiapó(CA), na presença (+) ou ausência (-) de Alumínio (Al), por um período de 15 dias de exposição ao elemento. A barra ao lado da legenda indica a DMS para cada ácido, respectivamente.

Quando cultivadas em solução nutritiva por um período de 4 dias sob stress de Al, a quantidade de ácidos acumulada nos tecidos radiculares foi significativamente superior para a cultivar mais tolerante, sendo notado na Figura 5. Esta mesma cultivar apresentou um acúmulo de 83,3% mais ácido cítrico quando comparada com a ausência de Al, e 81% a mais que caiapó submetida ao Al. O oxalato também foi acumulado significativamente a mais na cultivar comum branco submetida ao Al em relação à sua testemunha (ausência de Al) e em relação à caiapó. As quantidades de malato encontradas não diferiram significativamente entre cultivares e entre doses de Al. Para um período de 15 dias de exposição ou não ao Al, as quantidades de ácidos acumuladas, quando comparadas com as de menor período de cultivo foram maiores (Figura 6). Na cultivar comum branco, todos os ácidos estudados apresentaram diferenças significativas, sendo superiores os valores encontrados quando esta foi submetida ao Al. Já a cultivar caiapó apresentou elevação significativa apenas no conteúdo de ácido cítrico, mesmo que 63,1% menor que na cultivar comum branco. De qualquer forma, a retomada do crescimento radicular, principalmente na cultivar Caiapó, observado ao 15 dias de exposição ao Al, mostra que outro mecanismo pode estar atuando conjuntamente na determinação da tolerância, mesmo que seja simplesmente um maior investimento em expansão do sistema radicular, compensando as menores taxas de exudação de ácidos orgânicos.

A atuação conjunta de diferentes mecanismos de tolerância, já havia sido por Bucio *et al* (2000), e os presentes dados confirmam tal hipótese.

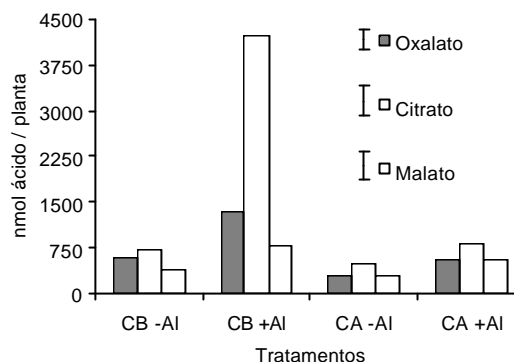


Figura 5. Conteúdo de ácidos orgânicos acumulados nas raízes dos cultivares de arroz Comum Branco (CB) e Caiapó (CA), na presença (+) ou ausência (-) de Alumínio (Al), por um período de 4 dias de exposição ao elemento. A barra ao lado da legenda indica a DMS para cada ácido, respectivamente.

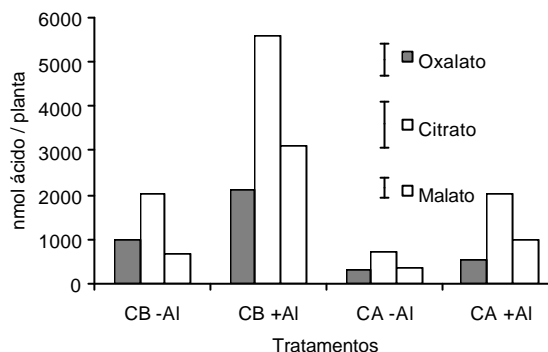


Figura 6. Conteúdo de ácidos orgânicos acumulados nas raízes dos cultivares de arroz Comum Branco (CB) e Caiapó (CA), na presença (+) ou ausência (-) de Alumínio (Al), por um período de 15 dias de exposição ao elemento. A barra ao lado da legenda indica a DMS para cada ácido, respectivamente.

## Conclusão

Os presentes dados nos permitem concluir que a variedade Comum Branco teve maior capacidade de amenizar o efeito do Al pelas quantidades de ácidos cítrico e málico, principalmente, exudadas e

acumuladas em seu sistema radicular e que outro mecanismo de tolerância ao Al pode estar atuando conjuntamente na variedade Caiapó

### Referências Bibliográficas

- BUCIO, J.L.; JACOBO, M.F.N; RODRÍGUEZ, V.R; ESTRELLA, L.H. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science* 160 : 1–13. 2000.
- MA, JF, RYAN PR, DELHAIZE, E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *TRENDS in Plant Science* v. 6, 273-278. 2001.
- RAMOS, F.T.; ROSSIELLO, R.O.P.; OLIVARES, F.L.; COSTA, A.P.S.; DORNELLES, M.S. Avaliação da penetração de corantes radiculares para detecção da tolerância diferencial ao alumínio em cultivares de arroz contrastantes. Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 23., Caxambu, 1998. Resumos... Lavras: UFLA/SBCS/SBM, p.328. 1998.
- RYAN, PR, DELHAIZE, E, JONES, DL. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52:527-560. 2001.
- SILVA, I.R; SMYTHA, T.J; C. RAPERA, D; CARTERB, T.E; RUFTYB, T.W. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. *Physiologia Plantarum* 112: 200–210. 2001
- ZHENG, S.J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat. *Plant Physiology*,v.117,p.745-751,1998.
- ZONTA, E. Estudo de mecanismos de tolerância ao alumínio em arroz de sequeiro. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo - UFRRJ .150 pag. 2003.