## UFRRJ

# INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

TESE

Toxidez do Alumínio em Caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium

othonianum Rizz.)

# SEBASTIÃO CARVALHO VASCONCELOS FILHO



## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

## TOXIDEZ DO ALUMÍNIO EM CAJU-DE-ÁRVORE-DO-CERRADO (ANACARDIUM OTHONIANUM RIZZ.)

# SEBASTIÃO CARVALHO VASCONCELOS FILHO

Sob a Orientação do Professor Jorge Jacob Neto

> Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de concentração em Fisiologia da Produção.

Seropédica, RJ Julho, 2014

## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

# SEBASTIÃO CARVALHO VASCONCELOS FILHO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de concentração em Fisiologia da Produção.

TESE DE DOUTORADO APROVADA EM 25/07/2014

Jorge Jacob Neto. (Ph.D.) UFRRJ (Orientador)

Fabiano Guimarães Silva. (Dr.) IFGOIANO

José Milton Alves. (Dr.) IFGOIANO

Silvia Regina Goi. (Ph.D.) UFRRJ

Marco Antônio da Silva Vasconcellos. (Dr.) UFRRJ

"A arte de escutar é como uma luz que dissipa a escuridão da ignorância"

Dalai Lama

# DEDICATÓRIA

Aos meus pais (Onilda Martins Vasconcelos; Sebastião Carvalho Vasconcelos), e minha irmã Jaqueline Martins Vasconcelos.

#### AGRADECIMENTOS

A Deus pelo milagre e mistério da vida.

A meus pais por todo apoio e por terem proporcionado as condições para chegar até aqui.

Ao Instituto Federal Goiano por todo apoio e incentivo na qualificação de seus profissionais.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade para a realização do curso.

Aos funcionários do Departamento de Agronomia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

Á minha irmã Jaqueline Martins Vasconcelos, pela amizade e carinho que nos une.

A todos os colegas do Dinter em Fitotecnia.

Aos Coordenadores Acadêmicos do Dinter, Professor Jorge Jacob Neto e Adelson Paulo de Araújo pelo empenho e dedicação, assim como ao Professor Fabiano Guimarães Silva, coordenador operacional do Dinter.

Aos Coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Maria Goreti, Regina Celi Cavestré Coneglian e Pedro Corrêa Damasceno Junior, bem como os diretores do IFGoiano Gilberto José de Faria Queiroz e Anísio Correa da Rocha.

#### RESUMO

VASCONCELOS FILHO, Sebastião Carvalho. **Toxidez do alumínio em caju-de-árvore-docerrado** (*Anacardium othonianum Rizz.*). 2014. 66f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

A avaliação da toxidez causada pelo alumínio em plantas das regiões brasileiras do cerrado é de grande importância para o desenvolvimento da agricultura. Isso porque nessas áreas predominam os latossolos, que são ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica, alta saturação por alumínio trocável e teores muito baixos de fósforo disponível às plantas. Pouca atenção tem sido dada às comunidades de plantas nativas do cerrado que toleram condições de solo ácido. A espécie Anacardium othonianum Rizz., é uma planta frutífera e conhecida popularmente como caju-de-árvore-do-cerrado, com várias aplicações alimentícias, nutricionais e medicinais, mas pouco estudada. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do alumínio no crescimento radicular, acúmulo de nutrientes e na estrutura anatômica das raízes de plântulas de A. othonianum Rizz. Para isso, plântulas recém germinadas foram cultivadas em solução nutritiva simples, composta de 0,1 mM de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, ou solução nutritiva completa com baixa força iônica, ambas com cinco concentrações de alumínio (0, 150, 300, 600 e 1200 µM). Posteriormente, as plântulas foram avaliadas quanto ao crescimento radicular, elongação radicular, massa seca, além de estudos anatômicos utilizando técnicas de microscopia de campo claro e fluorescência. Também foram avaliadas a porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência das plântulas utilizando areia lavada umedecida com solução de alumínio em diferentes concentrações. Os resultados demonstraram que o alumínio provocou redução nas taxas de crescimento radicular e elongação radicular relativa, sendo constatado fitotoxidez a partir de 150 µM de Al na solução. Também foi observado redução no índice de velocidade de emergência, porcentagem de emergência das plântulas e alterações anatômicas nos ápices radiculares, em especial nas regiões meristemáticas, sendo demonstrado estimulo à vacuolização dessas células e interiorização do alumínio em diferentes tecidos. O alumínio diminuiu a absorção da maioria dos nutrientes nas plântulas, tendo a seguinte ordem de redução nas raízes: P>Ca>Mg>N para os macronutrientes e Fe>Cu para os micronutrientes; nas folhas a redução seguiu a ordem: Ca>Mg>P. Por outro lado, as maiores concentrações de alumínio aumentaram os teores de N e K nas folhas e Mn nas raízes. Os teores de K nas raízes, e Fe, Cu e Mn nas folhas, não foram afetados pelas concentrações de alumínio. Os resultados demonstraram que a espécie tolera altas concentrações de alumínio, porém a queda nas taxas de crescimento radicular e nos teores de nutrientes podem prejudicar a produção de castanha e pseudofruto em solos ácidos com altas concentrações desse elemento, uma vez que a redução no crescimento radicular faz com que a planta explore menos volume de solo, o que consequentemente afeta a absorção de água e nutrientes.

Palavras-chave: crescimento, fitotoxidez, caju do cerrado.

#### ABSTRACT

VASCONCELOS FILHO, Sebastião Carvalho. Aluminum toxicity in the tree cashew of the cerrado (*Anacardium othonianum Rizz.*). 2014. 66p. Thesis (Doctor in Crop Science). Institute of Agronomy, Crop Science Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The evaluation of the toxicity caused by aluminum plants in the Brazilian cerrado regions has great importance for the development of agriculture, because these areas are dominated by oxisols, which are acid soils with low cation exchange capacity, high exchangeable aluminum saturation and very low phosphorus available to plants. Little attention has been given to communities of native cerrado plants that tolerate acid soil conditions, such as the species Anacardium othonianum Rizz., fruit plant and popularly known as the tree cashew of the cerrado, with many food, nutritional and medicinal applications. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of aluminum on root growth, nutrient accumulation and root structure of seedlings of A. othonianum Rizz. The germinated seedlings were growth in a nutrient solution only composed of 0,1 mM CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, and also in a complete low ionic strength solution, both with concentrations of aluminum (0, 150, 300, 600 and 1200 µM) nutrient solution. Subsequently, the seedlings were evaluated for root growth, root elongation, dry mass and anatomical studies using techniques of light and fluorescence microscopy field. Emergence percentage and speed index emergence seedlings using washed sand moistened with a solution of aluminum in different concentrations were also assessed. The results showed that aluminum caused a reduction in the rate of root growth and root elongation relative phytotoxicity being observed from 150 µM Al in solution. Reduction in the rate of emergence rate, percentage of seedlings emergence and anatomical changes in root tips, particularly in meristematic regions was also observed being demonstrated stimulation of these cells with vacuolization and internalization of aluminum in different tissues. Aluminum decreased absorption of most nutrients in the seedlings, with the following order of reduction in roots: P> Ca>Mg>N for macronutrients and Fe>Cu for micronutrients; reduction in leaves followed the order: Ca> Mg> P. On the other hand, higher concentrations of aluminum increased N and K content in leaves and Mn in roots. The K content in roots, and Fe, Cu and Mn in leaves were not affected by concentrations of aluminum. The results showed that this species tolerates high concentrations of aluminum, but the fall in rates of root growth and nutrient content can reduced the production of nut and pseudofruit in acid soils with high concentrations of this element, since the reduction in root growth makes plant operates less volume of soil, which in turn affects water and nutrient absorption.

Keywords: growth, phytotoxicity, cashew cerrado.

#### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto visual de uma planta adulta de Anacardium othonianum Rizz. Montes Figura 2. Aspecto visual de uma fruto de Anacardium othonianum Rizz. Montes Claros, GO. Foto: Fabiano Guimarães Silva......4 Figura 3. Germinação e instalações do sistema hidropônico para avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva das plântulas de Anacardium othonianum Rizz.....12 Figura 4. Crescimento das raízes das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio após 48 dias de cultivo. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = Figura 5. Coloração natural das raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) nos diferentes tratamentos após 48 dias de cultivo. A - sem alumínio. B - $150\mu$ M de Al. C – 300  $\mu$ M de Al. D - 600 $\mu$ M de Al. E – 1200  $\mu$ M de Al......20 Figura 6. Elongação radicular relativa (ERR %) das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) após 48 dias em solução nutritiva simples com concentrações diferentes de alumínio. Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) Figura 7. Análise de regressão das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV Figura 8. Regressão das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-de-árvore-docerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa em função dos dias de avaliação. Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = Figura 9. Crescimento das raízes das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio ao final dos 35 dias de cultivo. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) Figura 10. Aspecto visual das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de Figura 11. Elongação radicular relativa (ERR %) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) após 35 dias em solução nutritiva completa com concentrações diferentes de alumínio. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = Figura 12. Análise de regressão dos teores de cálcio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Figura 13. Análise de regressão dos teores de magnésio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 13,13 (folha) e 8,55 (raiz).....27 Figura 14. Análise de regressão dos teores de fósforo nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações

de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Figura 15. Análise de regressão dos teores de nitrogênio nas folhas e raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de Figura 16. Análise de regressão dos teores de potássio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.<sup>ns</sup> – não significativo. \*Significativo ao nível de 5% Figura 17. Análise de regressão dos teores de ferro nas folhas e raízes de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. <sup>ns</sup> – não significativo. \*\*Significativo ao nível de 1% Figura 18. Análise de regressão dos teores de cobre nas folhas e raízes plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.<sup>ns</sup> – não significativo. \*\*Significativo ao nível de 1% Figura 19. Análise de regressão dos teores de manganês nas folhas e raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.<sup>ns</sup> – não significativo. \*\*Significativo Figura 20. Micrografias óticas de cortes longitudinais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) corados com azul de toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio por 48 dias. Observou-se o engrossamento das raízes, além de lesões em diferentes regiões dos tecidos (setas) e células epidérmicas se destacando em função da presença do Al (cabeça de seta) nos diferentes tratamentos, sendo: A – sem Al; B – 150  $\mu$ M de Al; C – 300  $\mu$ M de Al; D – 600  $\mu$ M Figura 21. Micrografias óticas de cortes longitudinais do parênquima do córtex de raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) corados com azul de toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de Alumínio por 48 dias. Notou-se o efeito do alumínio no tamanho e forma das células parenquimáticas das raízes nos diferentes tratamentos, sendo: A - Sem Al; B - dose 150 µM de Al; C - dose 300 µM de Al; D - dose 600 µM de Al e E - dose 1200 µM de Al. Seta: detalhe Figura 22. Micrografias óticas de cortes transversais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) corados com floroglucinol após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio por 48 dias. A coloração avermelhada indica a presença de lignina nas paredes das células das raízes nos diferentes tratamentos, sendo: A e B - Sem Al; C - dose 150 µM de Al; D - dose 300 µM de Figura 23. Micrografias de fluorescência de cortes transversais de raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) tratados com o fluorocromo morin após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio. A fluorescência verde do morin-Al indica a presença de alumínio nos tecidos dos diferentes tratamentos, sendo: A – sem Al; B – dose 150 µM de Al; C - dose 300 µM de Al; D - dose 600 µM de Al e E - dose 1200 µM de Al; F - detalhe da fluorescência em uma célula parenquimática. En: endoderme; Fl: floema; Pa: parênquima; Xi: xilema. A até E com barras 

**Figura 28.** Razão Morin/ DAPI da porcentagem da área marcada nos ápices radiculares cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 64,64......44

 

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise de Variância das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio e dias de avaliação.....17 Tabela 2: Taxas de crescimento radicular (mm/dia) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas ao longo de 48 dias em uma solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio......18 Tabela 3: Equação de regressão e coeficientes de determinação das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas ao longo de 48 dias em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio......18 Tabela 4. Análise de Variância das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio e dias de avaliação......21 Tabela 5: Taxas de crescimento radicular (mm/dia) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas após 35 dias em solução nutritiva completa com Tabela 6: Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz das plântulas de caju-de-árvore-docerrado (Anacardium othonianum Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio por 35 dias......25 Tabela 7. Diâmetro da ponta das raízes e análise micromorfométrica das células do parênquima de preenchimento do córtex das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Tabela 8. Porcentagem da área lignificada nos tecidos das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução Tabela 9. Porcentagem da área marcada pelo fluorocromo morin em cortes transversais das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes Tabela 10. Diâmetro da ponta das raízes e análise micromorfométrica das células do meristema apical das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa......41 Tabela 11. Porcentagem da área marcada pelos fluorocromos Morin e DAPI em raízes de cajude-árvore-do-cerrado (Anacardium othonianum Rizz.) submetidas a diferentes concentrações 

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Descrição da espécie	3
2.2. Propriedades e aplicações da espécie	5
2.3. Considerações gerais sobre toxidez do alumínio em plantas	5
2.3.1. Toxicidade do alumínio e seu efeito na morfologia das plantas	5
2.3.2. A toxidez do alumínio a nível celular	6
2.3.3. Efeitos do alumínio na absorção de nutrientes	7
2.3.4. Mecanismos de tolerância	8
2.3.5. Uso de soluções nutritivas na avalição da toxidez por alumínio	9
2.3.6. Uso de corantes nas pesquisas sobre fitotoxidez por alumínio	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples	12
3.2. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva completa	13
3.3. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais	14
3.4. Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de Anacardium	
othonianum Rizz	14
3.4.1. Plântulas crescidas em solução nutritiva simples	14
3.4.2. Plântulas crescidas em solução nutritiva completa	15
3.5. Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência das plântulas de Anacardiun	т
othonianum Rizz. submetidas ao stress por alumínio.	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1. Resultados	17
4.1.1. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples	17
4.1.2. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva completa	21
4.1.3. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais	25
4.1.4. Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de Anacardium	
othonianum Rizz	32
4.1.4.1. Plântulas crescidas em solução nutritiva simples	32
4.1.4.2. Plântulas crescidas em solução nutritiva completa	38
4.1.5. Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de Anacardia	ım
othonianum Rizz. submetidas ao stress por alumínio.	44
4.2. Discussão	48
4.2.1 Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples e completa	48
4.2.2. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais	50
4.2.3. Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de Anacardium	
othonianum Rizz. crescidas em solução nutritiva simples e completa	51
5.2.4. Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de Anacardia	ım
othonianum Rizz. submetidas ao stress por alumínio.	54
5. CONCLUSOES	56
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57

# SUMÁRIO

## 1. INTRODUÇÃO

A avaliação da toxidez causada por alumínio em plantas das regiões brasileiras do cerrado é de grande importância para o desenvolvimento agricultura. Isso porque as áreas do cerrado ocupam quase um quarto do território nacional, concentrando-se nos estados de Minas Gerais, Goiás, Tocantins, Bahia, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Piauí e o Distrito Federal, sendo que nessas áreas predominam-se os solos Latossolos, que são caracteristicamente ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica, alta saturação por alumínio trocável e teores muito baixos de fósforo disponível às plantas (FERREIRA, MOREIRA & RASSINI, 2006).

De foram geral, a acidez do solo aliada os altos níveis de alumínio e a deficiência de cálcio, magnésio e fósforo são frequentemente considerados os principais fatores limitantes do crescimento das plantas. A toxidez é causada quando os valores de pH são iguais ou inferiores a 5.0, onde a forma trivalente Al<sup>+3</sup>, que é considerada a mais tóxica, torna-se solúvel podendo causar nas plantas inibição do crescimento e alterações negativas no metabolismo (SILVA, 2012).

Em genótipos mais sensíveis o alumínio inibe principalmente o desenvolvimento do sistema radicular (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006), com redução da elongação radicular (MOTODA et al., 2010) e dependendo do grau de toxidez, poderá ocorrer a morte das células da zona meristemática e tecidos corticais (SIMONOVICOVA et al., 2004). Em níveis intermediários podem ocorrer manchas de cor marron-castanho pouco atrás da região meristemática, assim como na epiderme das regiões novas ou das mais velhas. Essas manchas são indicativas do aparecimento de substâncias polifenólicas (NAGY et al., 2004). Esse fato está relacionado à forte afinidade que o alumínio tem por compostos doadores de oxigênio, que podem ser desde moléculas estruturalmente simples, até bastante complexas, como as antocianinas e flavonóides (TOLRA et al., 2005).

Como o maior efeito do alumínio está na redução do sistema radicular, consequentemente esse elemento também afetará a absorção de nutrientes. Olivares et al. (2009) registrou desequilíbrios nutricionais causados pelo Al em onze famílias de pteridófitos, principalmente de Ca, Mg, P e K. Nas espécies cultivadas, os exemplos são muitos. No milho o Al teve efeito negativo principalmente sobre a absorção de Ca e Mg, entre os macronutrientes; e Mn e Zn foram os micronutrientes mais afetados (MARIANO & KELTJENS, 2005). No trigo, tanto genótipos sensíveis e tolerantes apresentaram uma redução nas concentrações de K e Mg das raízes, sendo os desequilíbrios nutricionais mais acentuados nas cultivares sensíveis (SILVA et al., 2010). Em uma cultivar sensível de abacaxi, o Al inibiu significativamente a absorção de Ca, Mg, K, Fe, Mn e Cu (LIN, 2010).

Uma das principais metodologias empregadas no estudo dos efeitos do Al no crescimento e metabolismo das plantas é a utilização de meios de cultivo que utilizam diferentes concentrações de Al em sistema hidropônico, possibilitando controlar o pH, as concentrações do Al e os demais íons presentes na solução que são relevantes para a expressão das reações de sensibilidade ou tolerância (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006).

O estudo de plantas que são tolerantes as várias concentrações de alumínio tem sido considerado a melhor alternativa no aumento da produção em solos ácidos com concentrações altas desse cátion. (SANCCHEZ-CHACÓN et al., 2002; ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001). Sendo indispensáveis compreender as diferentes estratégias de tolerância ao alumínio para que possam ser empregadas em programas de melhoramento genético, que possuem como objetivo selecionar plantas mais produtivas e que apresentam maior adaptabilidade em condições de estresse. Podendo, dessa forma, amenizar os problemas de produtividade em solos

ácidos ocasionado pelos altos níveis de Al (FREITAS et al., 2006). Sendo assim, o estudo de plantas nativas do cerrado, que se estabeleceram em solos ácidos com presença de Al, torna-se indispensável.

A toxicidade de alumínio é um tópico de pesquisa importante, pois muitas plantas cultivadas são suscetíveis em solos ácidos e seu crescimento e produção são prejudicados pelos altos níveis de Al disponível no solo (KOCHIAN et al., 2004). São conhecidos, por exemplo, vários sintomas relacionamos ao efeitos desse elemento em espécies sensíveis, tais como a inibição do alongamento radicular bem como efeitos a nível estrutural e ultraestrutural, como por exemplo a inibição da replicação celular (GREVENSTUK & ROMANO, 2013).

No cerrado, a toxidez de Al como determinante de ocorrência de fisionomia de cerrado foi relatada por vários autores (HARIDASAN, 2000; ROSSI et al., 2005; RUGGIERO et al., 2006). No entanto, pouca atenção tem sido dada a essas comunidades de plantas nativas que toleram condições de solo ácido sobre grandes áreas em diferentes biomas (HARIDASAN, 2008; HARTWIG et al., 2007), como o cerrado, sendo poucos os trabalhos que avaliaram o efeito do alumínio sobre crescimento dessas plantas.

Dentre as espécies nativas do Cerrado brasileiro, o *Anacardium othonianum* Rizz. se destaca devido à importância econômica para a região. É conhecido popularmente como cajude-árvore-do-cerrado, cajuzinho e cajuí, distingue-se das demais espécies de caju na região central do Brasil pelo porte arbóreo (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). A planta tolera bem os períodos de seca e os solos pobres, com pH entre 4,5 - 6,5 (SILVA et al., 2001). Porém, as plantas mais desenvolvidas (maior área basal) ocorrem com a diminuição da saturação do alumínio no solo (NAVES, 1999). Dessa forma, a realização de pesquisas sobre o efeito do alumínio no crescimento e nutrição de *A. othonianum* Rizz. podem contribuir com projetos que visem estabelecer sistemas de cultivo e melhoramento dessa espécie.

O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento radicular, estrutura anatômica da raiz, absorção de minerais, porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência em caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.), uma espécie nativa do cerrado, submetidas a diferentes concentrações de alumínio.

### 2. REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1. Descrição da espécie

Anacardium othonianum Rizz. é conhecido popularmente como caju-de-árvore-docerrado, cajuzinho e cajuí, distingue-se das demais espécies de caju existentes na região central do Brasil pelo porte arbóreo. A altura das plantas e o diâmetro de sua copa variam de 3 a 4 metros (Figura 1). A planta tolera bem os períodos de seca e os solos pobres, com pH entre 4,5 - 6,5. As folhas são elípticas, coriáceas, glabras, com base subcordata e pecíolos medindo 4-8 mm. As flores estão reunidas em panículas amplas, as brácteas são foliosas, pilosas e as pétalas estreitas, alongadas e avermelhadas. As flores são hermafroditas e unissexuais (masculinas), sendo que as masculinas aparecem no início da floração e as hermafroditas no final. As flores são polinizadas por abelhas e vespas (SILVA et al., 2001).



**Figura 1.** Aspecto visual de uma planta adulta de *Anacardium othonianum* Rizz. Montes Claros, GO. Foto: Fabiano Guimarães Silva.

A espécie é bastante produtiva, apresentando florescimento de setembro a outubro e frutificação em novembro. A taxa de germinação é elevada, porém suas folhas são bastante atacadas por fungos (FERREIRA, 1973).

Em geral, o gênero *Anacardium* é constituído por plantas que podem ser propagadas de forma sexuada, ou assexuada, através da utilização de partes vegetativas da planta, como enxertia e estaquia. A espécie é predominantemente alógama, sendo necessário o pólen de outra flor para que ocorra a fecundação. Apesar de ser possível o cruzamento entre flores de uma

mesmo indivíduo, o mais comum é a polinização entre plantas vizinhas (BARROS & CRISÓSTOMO, 1995; SILVA et al., 2001, OLIVEIRA, 2008).

Apresenta uma distribuição restrita, com maior presença no cerrado e menor no cerradão, ocorrendo principalmente em Neossolos Litólicos, e ou em solos com concreções ou cascalho. A densidade de indivíduos é maior com o aumento da acidez do solo, e plantas mais desenvolvidas (maior área basal) com a diminuição da saturação em alumínio (NAVES, 1999). Segundo Frota (1988), o cajueiro apresenta crescimento intermitente, cuja periodicidade pode manifestar-se em diferentes níveis de intensidade nas diversas fases de desenvolvimento da planta, como queda das folhas, floração e frutificação. A queda de folhas ocorre durante todo o ano, mas aumenta acentuadamente a partir de maio, logo após as chuvas mais intensas, e atinge o pico entre junho e agosto.

Apresenta fruto do tipo aquênio cujo pedúnculo se desenvolve em um pseudofruto em forma de pera com coloração variando do amarelo ao vermelho (Figura 2). Os pseudofrutos medem de 2 a 4 cm de comprimento por 2 a 3 cm de diâmetro, 5 a 12 g de massa fresca; apresentando alto valor nutritivo, com elevado teor de vitamina C. É rico em fibras e compostos fenólicos, em especial taninos, que conferem adstringência ao pedúnculo (SILVA et al., 2001; PAIVA et al., 2003; LIMA et al., 2004). Cada planta produz de 200 e 600 frutos que são colhidos entre os meses de setembro e outubro a partir do segundo ou terceiro ano de vida da planta (MENDONÇA et al., 1998).



**Figura 2.** Aspecto visual de um fruto de *Anacardium othonianum* Rizz. Montes Claros, GO. Foto: Fabiano Guimarães Silva.

#### 2.2. Propriedades e aplicações da espécie

A espécie *Anacardium othonianum* Rizz. é aproveitada de várias formas: na medicina popular, o chá da raiz é utilizado como purgativo e, quando macerada em vinho, é utilizado para tratar diabetes e reumatismo. A casca é usada em gargarejo para inflamação da garganta, também como tintorial em curtumes, devido à grande quantidade de tanino. As folhas e a casca são empregadas como antidiarréico e expectorante, o óleo das sementes é utilizado pelos índios para eliminar manchas e verrugas e o pseudofruto é considerado como anti-sifilítico. Na alimentação, o pseudofruto é consumido *in natura* ou na forma de sucos, doces, geleias e sorvetes. Através da fermentação da polpa, é produzida uma espécie de vinho ou aguardente. A amêndoa torrada é comestível e bastante saboreada (ALMEIDA et al., 1998).

O pseudofruto é rico em vitamina C, fibras e compostos fenólicos. Além do potencial vitamínico, estes compostos conferem potencial antioxidante à polpa do caju. Esta propriedade biológica está associada à prevenção de doenças crônicas degenerativas, como problemas cardiovasculares, câncer e diabetes (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). Também foram verificados no pseudofruto valor protéico de 1,18 g/100g; lipídios 0,63 g/100g; carboidratos 6,97 g/100g; fibra alimentar 4,26 g/100g; resíduo mineral fixo 0,33 g/100g; valor energético total de 38,27 kcal/100g e composição mineral de 15 mg/100g de cálcio, 0,65 mg/100g de zinco e 0,26 mg/100g de ferro (SILVA et al., 2008).

#### 2.3. Considerações gerais sobre toxidez do alumínio em plantas

#### 2.3.1. Toxicidade do alumínio e seu efeito na morfologia das plantas

O alumínio é um dos elemento químico mais abundante na crosta terrestre, porém é uma pequena quantidade desse elemento que ocorre na forma solúvel e tóxica para as plantas. Quando o valor do pH do solo está abaixo de 5, predomina o íon Al<sup>3+,</sup> que cede lugar aos íons Al(OH)<sup>++</sup>, Al (OH)<sup>2+</sup> e Al (OH)<sub>3</sub> à medida que aumenta o valor de pH (KISS, 1995; MOSSOR-PIETRASZEWSKA, 2001). É a forma trivalente Al<sup>+3</sup> considerada a mais tóxica, capaz de causar nas plantas inibição do crescimento radicular e alterações negativas no metabolismo, prejudicando o desenvolvimento e a produção do vegetal (SILVA, 2012).

Geralmente o efeito tóxico do alumínio provoca severas mudanças da morfologia da raiz, sendo observado inibição do alongamento radicular, resultando em raízes mais curtas com o ápices mais grossos, com poucos ou nenhum pelo radicular (GUPTA et al., 2013). Observase que em genótipos mais sensíveis, a inibição do crescimento radicular pode acontecer entre trinta minutos e duas horas após o início da exposição ao Al (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2002).

Dependendo do grau de toxidez, poderá ocorrer ainda a morte das células da zona meristemática e tecidos corticais, com consequente paralização do crescimento radicular (SIMONOVICOVA et al., 2004) e consequentemente a absorção de nutrientes. Também é comum, quando em níveis intermediários, que o alumínio provoque manchas de cor marroncastanho pouco atrás da região meristemática, assim como na epiderme das regiões novas ou das mais velhas. Essas manchas são indicativas do aparecimento de substâncias polifenólicas (NAGY et al., 2004). Esse fato está relacionado à forte afinidade que o alumínio tem por compostos doadores de oxigênio, desde moléculas estruturalmente simples, até bastante complexas, como antocianinas e flavonoides (TOLRA et al., 2005).

Os efeitos mais comuns observados na parte aérea, envolvem o enrolamento das folhas jovens, redução da abertura estomática, diminuição da atividade fotossintética e folhas amareladas com clorose e necrose, resultando em menor produção de biomassa (WATANABE & OSAKI, 2002).

#### 2.3.2. A toxidez do alumínio a nível celular

A maioria dos estudos indica que a maior parte do alumínio fica localizada no apoplasto, porém esse fato não implica que os alvos do Al fiquem restritos às paredes celulares (LI et al., 2009). A membrana celular proporciona potenciais sítios de ligação para o Al tais como os grupos carboxila e fosfato. A afinidade de Al pela fosfatidilcolina da superfície da membrana, por exemplo, é 500 vezes maior do que a do Ca (ÀKESON et al., 1989). Dessa forma, a ligação do Al na membrana plasmática pode explicar mudanças em suas propriedades, tais como a fluidez, alterações na atividade de canais iônicos, alteração na homeostase do Ca (RENGEL & ZHANG, 2003), inibição de H + -ATPase (AHN et al., 2001), e a peroxidação lipídica (CORRALES et al., 2008).

O Ca<sup>2+</sup> atua como um importante sinalizador envolvido em processos intracelulares e de estresses ambientais, como o estresse iônico, por exemplo pelo Na e o próprio Al, nas plantas (FOY et al., 1978). Diversos estudos demonstraram que um dos primeiros sintomas bioquímicos da toxicidade do Al é a alteração da homeostase de Ca<sup>2+</sup> citosólico (BENNET & BREEN, 1991; RENGEL & ELLIOT, 1992; JONES & KOCHIAN, 1995). Zhang e Rengel (1999) verificaram que o Al é capaz de induzir um aumento nas concentrações de Ca<sup>2+</sup> intracelular em células sub-apicais radiculares de arroz. Por outro lado, Jones et al. (1998) trabalhando com culturas de tabaco, observaram que o Al induziu diminuição do Ca<sup>2+</sup> intracelular. Essa contradição de resultados pode ser resultante das diferenças na fisiologia e morfologia dos cultivares analisados, visto que os trabalhos utilizando arroz foram feitos com cultura de células, enquanto que no trabalho utilizando tabaco foram feitos com células presentes no tecido afetado.

Achary et al. (2008) avaliaram o efeito do alumínio em duas variedades de milho, sendo uma sensível e outra tolerante. Os autores constataram que o tratamento com alumínio afetou o crescimento da raiz e homeostase do  $Ca^{2+}$  citoplasmático na variedade sensível, mas não afetou a variedade tolerante.

O aumento dos níveis de  $Ca^{2+}$  citosólico, resultante da presença do Al, pode afetar diretamente processos metabólicos que dependem desse cátion como, por exemplo, na regulação da divisão e alongamento celular. Além disso, o aumento do  $Ca^{2+}$  citosólico é condição para síntese de calose, e o aumento das concentrações de calose na célula pode acarretar o fechamento dos plasmodesmos. Dessa forma o alumínio afetaria a comunicação entre as células (SIVAGURU et al., 2000).

Na extremidade da raiz de uma variedade de arroz sensível ao Al, Yang et al. (2008) constataram altas concentrações desse elemento e uma maior atividade da enzima metilesterase, com maior proporção de pectina não esterificada quando comparada à variedade de arroz resistente ao Al. As pectinas são importantes componentes da parede celular e é o principal da lamela média, participando juntamente com a celulose e hemiceluloses da manutenção da união intercelular (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O Al induz enrijecimento da parede celular. A expansão da parede requer tanto afrouxamento da parede como síntese de novos componentes da matriz. A ligação do Al em componentes recém formados da matriz durante o processo de alongamento podem diminuir as propriedades mecânicas da parede dificultando o alongamento celular (BARCELÓ et al, 1996; MA et al; 2004; JONES et al, 2006).

No simplasto, os principais alvos do Al são o ATP, GTP, ácidos nucléicos, glutamato, vesículas de transporte endossomal e citoesqueleto (YANG et al., 2008). Pejchara et al. (2008) observaram que em células de tabaco o Al<sup>3+</sup> reduziu a formação de ácido fosfatídico *in vivo*, inibiu a atividade da fosfatidilinositol-4,5-bifosfato dependente de fosfolipase D *in vitro* e que a produção de ácido fosfatídico modificou a dinâmica dos microtúbulos. Frantzios et al. (2001) também evidenciaram que os microtúbulos das células da raiz de trigo são um dos alvos da

toxicidade do Al, visto que as células mitóticas tratadas com Al apresentavam sérios distúrbios no alinhamento do cinetocoro, assim como problemas na formação da placa equatorial, resultando em cromossomos dispersos pelo citoplasma.

Yamamoto et al. (2002) trabalhando com culturas de células de tabaco, constataram que em comparação com o tratamento controle (sem Al), que o acúmulo de Al nas células de tabaco causou instantaneamente a repressão de atividades mitocondriais, produção de espécies reativas de oxigênio, inibição da respiração, decréscimo de ATP, e perda de capacidade de crescimento, quase simultaneamente. Analisando o conjunto, os autores concluíram que o Al afeta também funções mitocondriais, o que leva à produção de espécies reativas de oxigênio, provavelmente o evento crítico chave do Al na inibição do crescimento celular.

O aparecimento de numerosos e pequenos vacúolos em grande parte do citoplasma das células meristemáticas também foi observado em plantas submetidas ao estresse com alumínio (IKEDA & TADANO, 1993; MARIENFIELD et al., 1995). O aumento no número de vacúolos nessas células estava diretamente relacionado com um aumento da atividade de transporte de H+ dependente de ATP nessa organela (MATSUMOTO et al., 1996; KASAI et al., 1992). Concluiu-se que o aumento da vacuolização aliado ao aumento da atividade do transporte de H<sup>+</sup> poderia catalisar o sequestro do Al citoplasmático para o vacúolo ou manter a homeostase do pH pela restauração de H<sup>+</sup> pelo vacúolo (MATSUMOTO, 1991; HAMILTON et al., 2001). Além disso, foi visto que a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática é aumentada na presença do Al (FAÇANHA & OKOROKOVA-FAÇANHA, 2002).

Vários estudos demonstraram a capacidade do alumínio em provocar morte celular, inibir a divisão e elongação celular, e absorção de nutrientes, porém os mecanismos específicos de inibição do alongamento radicular ainda não foram bem esclarecidos (DELHAIZE & RYAN, 1995; LLUGANY et al, 1995; RENGEL, 1996).

#### 2.3.3. Efeitos do alumínio na absorção de nutrientes

Plantas afetadas pelo Al apresentam sintomas de deficiência de nutrientes, tais como P, Ca, Mg e K, devido à interferência do Al nos processos de absorção, transporte e uso destes nutrientes. Tais interferências ocorrem devido a alterações celulares que afetam a divisão, expansão celular e propriedades da membrana plasmática, afetando consequentemente a absorção desses íons. Alguns desses efeitos são visualizados pelo menor crescimento e engrossamento do sistema radicular (KOCHIAN, 1992). Além disso, a carência de elementos essenciais provoca distúrbios no metabolismo que podem ser evidenciados pelo menor teor de proteínas, clorose nas folhas e outras anormalidades (BASSO, 2007).

Desequilíbrios nutricionais, principalmente de Ca, Mg, P e K, provocados pelo alumínio, foram relatados por Olivares et al. (2009) em onzes espécies de pteridófitas. No milho o Al teve efeito negativo sobre a absorção principalmente de Ca e Mg, entre os macronutrientes; e Mn e Zn foram os micronutrientes mais afetados (MARIANO & KELTJENS, 2005). No trigo, tanto genótipos sensíveis e tolerantes apresentaram uma redução nas concentrações de K e Mg das raízes, sendo os desequilíbrios nutricionais mais acentuados nas cultivares sensíveis (SILVA et al., 2010). Em uma cultivar sensível de abacaxi, o Al inibiu significativamente a absorção de Ca, Mg, K, Fe, Mn e Cu (LIN, 2010).

Todas essas alterações acarretam em menor crescimento das raízes, o que é explicado pelos problemas de alongamento e divisão celular. Sendo assim, além de impedir o crescimento do sistema radicular, quando aliados a períodos de veranico, reduzem de forma drástica a produtividade dos vegetais em solos ácidos, o que inviabiliza o cultivo (FERNANDES, 2006; HARTWIG et al., 2007).

#### 2.3.4. Mecanismos de tolerância

Apesar do efeito tóxico do alumínio, como exposto acima, muitas espécies são tolerantes a esse composto, conseguindo estabelecer e sobreviver em manchas de solo com grandes concentrações desse metal, como exemplo o Pau Terra Liso (*Qualea multiflora*), Pau Terra (*Qualea grandiflora*), Acoita cavalo (*Vochysia thyrsoidea*) e Colher de Vaqueiro (*Salvertia convallariaeodora*). A grande distribuição dessas plantas em pequenas parcelas de cerrado demonstra a capacidade das mesmas como tolerantes ao alumínio, um dos elementos denominados metais tóxicos que em concentrações excessivas resultam em fitotoxidez (HARIDASAN, 2008).

São consideradas plantas "tolerantes" aquelas que apresentam mecanismos de desintoxicação ou sequestram o Al internamente (DELHAIZE et al., 2007). Esses mecanismos de tolerância ao Al<sup>3+</sup> operando em diferentes espécies de plantas estão divididos em dois grupos. Um grupo é formado pelos mecanismos de exclusão, onde estão incluídos mecanismos de exsudação nas raízes de ligantes orgânicos que complexam o Al<sup>3+</sup>, ligantes ao Al<sup>3+</sup> contidos na mucilagem secretada pelas raízes, efluxo do Al<sup>3+</sup> acumulado e alteração no pH da rizosfera. O outro grupo é formado pelos mecanismos de desintoxicação interna, onde está incluída a fixação do Al<sup>3+</sup> na parede celular, a complexação no simplasto via ligantes orgânicos e o sequestro no vacúolo (KOCHIAN et al., 2004).

De acordo com Dodge e Hiatt (1992), algumas espécies tem a capacidade de elevar o pH ao redor do ápice radicular mediante influxo de íons H<sup>+</sup> pelo próprio ápice radicular, dessa forma, com a elevação do pH ao redor da raiz o efeito tóxico do Al seria reduzido (DODGE & HIATT, 1992), porém Jacob Neto (1993) não encontrou este efeito. Degenhardt et al. (1998) demonstraram esse mecanismo avaliando mutantes de *Arabidopsis* selvagem. Porém, seus resultados são questionados e ainda não foram feitas demonstrações diretas desse mecanismo de tolerância (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

Primeiramente detectado em genótipos de trigo tolerante ao alumínio, a liberação de ligantes orgânicos é um mecanismo que se baseia na capacidade das plantas tolerantes exsudarem maior quantidade de ácidos orgânicos quando em condições de estresse com alumínio. Dessa forma os ácidos orgânicos liberados a partir do ápice radicular se ligam ao Al<sup>3+</sup> convertendo-se assim a um complexo não tóxico e evitando a absorção do metal pela raiz (HARTWIG et al., 2007).

Atualmente, o mecanismo de exsudação de ácidos orgânicos é considerado um dos principais mecanismos relacionados à tolerância ao Al. Dentre os ácidos orgânicos mais mencionados na literatura, podemos destacar o malato, citrato e o oxalato. Em geral, existem genótipos tolerantes ao Al em várias espécies de plantas que compartilham deste mecanismo de tolerância. Da mesma forma, existe uma especificidade do ácido orgânico que desempenha a resposta de tolerância ao Al entre as diferentes espécies, como por exemplo: milho, citrato (PELLET et al. 1995; KORN et al. 1997; PIÑEROS et al. 2002); em centeio, citrato e malato (LI et al., 2000); em aveia, citrato e malato (ZHENG et al., 1998); em cevada, citrato (ZHAO et al., 2003); em soja, citrato (YANG et al. 2000; SILVA et al. 2001).

O citrato é o ácido orgânico mais comum entre as espécies, e também é considerado, entre os diferentes ácidos orgânicos, o mais eficiente por ser um ânion tricarboxilado, formando assim o quelato citrato-Al que é muito mais estável quando comparado ao malato, por ser um ânion dicarboxilado (HARTWIG et al., 2007)

Outro mecanismo estudado baseia-se na capacidade de compostos fenólicos se ligarem a metais, tais como o Al (OFEI-MANU et al., 2001). De acordo com os autores, em ervas de chás, os compostos fenólicos formam complexos com o Al em pH neutro no citosol acarretando em um processo de desintoxicação interna. Kidd et al. (2001) relacionaram a exsudação de flavonóides em três genótipos de milho a presença do Al, sugerindo que esses compostos fenólicos atuem na desintoxicação do Al na rizosfera. Porém esse processo ainda é pouco compreendido, principalmente devido ao fato que em condições ácidas, o Al e H<sup>+</sup> competem pelos sítios dos compostos fenólicos, o que reduz sua capacidade de complexação comparado aos dos ácidos orgânicos (HARTWIG et al., 2007).

Outros possíveis mecanismos de tolerância ao Al envolvem outros exsudados orgânicos quelantes do Al ainda não descobertos, como formação de barreiras via componentes que alteram o pH da rizosfera, complexação do Al por mucilagens secretadas pelas raízes e exclusão do Al acumulado por algum transportador específico desse elemento. Também é especulada a fixação do Al na parede celular e a complexação no simplasto via diferentes compostos orgânicos (HARTWIG et al., 2007).

A estratégia do melhoramento de plantas em desenvolver genótipos que tolerem a presença do Al no solo vem tendo elevada importância. A recente disponibilidade de genes envolvidos na síntese de ácidos orgânicos proporciona nova oportunidade para o desenvolvimento de plantas tolerantes ao Al (CONCEIÇÃO et al., 2008).

O gene ALMT1 (aluminum-activated malate transporter) foi clonado, sendo demonstrado que é expresso no ápice das raízes de plântulas de trigo e que codifica para uma proteína trans-membrana, que atua como transportadora de malato ativada por  $Al^{3+}$ , facilitando o efluxo de malato na presença de alumínio (SASAKI et al., 2004). No mesmo ano, a cevada foi transformada com o gene ALMT1, e a expressão do gene do trigo conferiu efluxo similar de malato ativado por  $Al^{3+}$  e elevada tolerância ao metal (DELHAIZE et al., 2004).

Este gene foi utilizado por Delhaize et al. (2004) para transformar plantas de cevada sensíveis ao alumínio. Estes autores demonstraram que as plantas transgênicas superexpressando ALMT1 são mais tolerantes ao Al do que plantas selvagens.

Ryan et al. (2009) relacionaram o efluxo de citrato nas raízes de trigo à presença de um único gene localizado no cromossomo 4B que contribui para a tolerância ao alumínio. Magalhães et al. (2007) também constataram efluxo de citrato ativado por alumínio em sorgo e atribuíram essa característica a um gene de tolerância denominado Alt<sub>SB</sub> localizado na região terminal do cromossomo 3.

Mais recentemente Maron et al. (2013) demonstram que a tolerância ao alumínio em milho deve-se à presença de três cópias do gene MATE1. O estudo revelou que este gene, em triplicata, é um evento raro na espécie e está presente na linhagem de milho Cateto Al 237/67, que foi desenvolvida pela Embrapa Milho e Sorgo e é considerada uma das principais fontes de tolerância ao alumínio.

De acordo com Rossielo e Jacob Neto (2006), a utilização de genótipos tolerantes ao Al pode ser vantajosa, mesmo em solos corrigidos, uma vez que a não incorporação do calcário no sistema de plantio direto torna menos eficiente a correção da acidez do solo em profundidade, devido à baixa solubilidade e mobilidade do cálcio no perfil do solo.

Constantemente novos genes relacionados à tolerância ao alumínio são identificados e essas novas descobertas abrem caminho para pesquisas que buscam compreender cada vez mais as bases genéticas e moleculares da tolerância a esse metal assim como fornecer recursos genéticos para o melhoramento de espécies cultivadas.

#### 2.3.5. Uso de soluções nutritivas na avalição da toxidez por alumínio

Existe certa dificuldade em se isolar os efeitos do Al, já que alguns fatores como pH, composição iônica, disponibilidade de gases trocáveis e o teor de matéria orgânica, acabam por influenciar nos resultados. Do ponto de vista agronômico, uma similaridade mais confiável seria avaliar os efeitos do Al em ambiente natural. Porém em termos práticos, acredita-se que as concentrações de Al não são uniformes no substrato de crescimento, e que a interação com

outros fatores ambientais podem mascarar os resultados, tornando a realização de pesquisas em solução nutritiva uma boa alternativa (ROSSIELO & JACOB NETO, 2006).

De acordo com Magnavaca (1991), dentre os métodos de avaliação da toxidez por Al, é possível de maneira rápida, simples e econômica avaliar a capacidade de tolerância a esse elemento em um grande número de plantas através do uso de soluções nutritivas, possibilitando um maior controle de fatores, que em sua maioria podem intervir sobre sua ação tóxica.

Entre as vantagens do meio hidropônico está o acesso ao sistema radicular, o controle do pH, das concentrações do Al e de outros íons relevantes para as expressões da reação a sensibilidade e tolerância (ROSSIELO & JACOB NETO, 2006).

A alta concentração iônica reduz a fitotoxicidade do Al, através de interações físicoquimica estabelecidas por esse elemento com outros íons, sendo necessário um aumento na concentração do Al e no tempo de exposição para se induzir os sintomas de toxidez. Tais situações levaram a formulação de soluções salinas formadas a partir da dissolução de cloretos de Ca e de Al em meio ácido, que além de simularem as concentrações iônicas típicas de soluções de solos ácidos, reduzem os problemas relacionados à precipitação do Al, pela ausência de outros ligantes que não o OH. Isso porque o Al possui uma grande afinidade por oxi-ânions orgânicos e inorgânicos e pode formar complexos solúveis com sulfato, fosfato, silicato e borato e ácidos orgânicos simples, sendo que a presença de ânions fosfato na solução é crítica para a interação com o Al. Dessa forma, a atividade da espécie livre pode ser reduzida através da redução da força iônica do meio em pH constante (ROSSIELO & JACOB NETO, 2006).

Conforme Pavan et al. (1982), foi constatado que a diluição da concentração de uma solução de Hoagland e Arnon sobre a atividade do Al em hidropônia, reduz a concentração efetiva dos contra-ions responsáveis pela formação dos pares iônicos com o Al. Baseado no comportamento de espécies iônicas mononucleares de Al em solução, é esperado que o poder fitotóxico de uma solução contendo Al seja maximizado a valores de pH 4,0 ou inferiores. Porém, grande parte das plantas cultivadas, são incapazes de tolerar níveis de acidez tão altos, sendo então necessário que os testes de resposta ao Al sejam testados com valores de pH acima de 4,0, onde o Al tem sua atividade reduzida, mas ainda é capaz de ocasionar sérios danos aos genótipos mais sensíveis. Entretanto, o uso de soluções nutritivas simples ou completa tem sido usado extensivamente pois permite maior controle experimental além de rapidez, menor custo operacional, maior facilidade de avaliação e satisfatória eficiência (SILVA et al., 2014; PORTALUPPI et al., 2010; FURNALI et al., 2000).

#### 2.3.6. Uso de corantes nas pesquisas sobre fitotoxidez por alumínio

Além dos parâmetros morfológicos empregados por diversos autores na avaliação da fitotoxidez do alumínio nas plantas, tais como elongação radicular relativa (VASCONCELOS, 2002), massa fresca relativa de parte aérea (JAN & PETERSSON, 1989), massa seca de parte aérea (FOY & SILVA, 1991), massa seca de raízes (JAN & PETERSSON, 1989), comprimento radicular (FAGERIA et al, 1988); o uso de corantes químicos também tornou-se um método bastante difundido, principalmente porque são métodos rápidos e baratos.

Um dos método mais utilizados, emprega o corante hematoxilina, cuja aplicação baseiase na formação do complexo corado entre a hematoxilina e o Al ligado na raiz. Nesse método, quando o Al não destrói o meristema apical da raiz, a parte da raiz que cresce após o tratamento com Al permanece branca (não corada), enquanto que as raízes que foram afetadas pelo Al ficam densamente coradas (POLLE et al., 1978). Outros corantes podem ser utilizados, tais como: quinalizarina (KALOVOULOS & MISOPOLINOS, 1993), azul de metileno (WAGATSUMA et al., 1988) e violeta de pirocatecol (JACOB NETO, 1993, VASCONCELOS, 1997). Além das técnicas convencionais de coloração, um dos melhores métodos para detecção, localização e distribuição do alumínio nos tecidos vegetais baseia-se na utilização de métodos de microscopia de fluorescência, como a que utiliza o fluorocromo morin (ETICHA et al., 2005). Esse método permite detectar alumínio no citoplasma e núcleo celular, porém não é capaz de marcar o alumínio ligado a parede celular ou compartimentalizado no vacúolo. A não coloração pelo morin nos vacúolos pode ser atribuída ao fato deste fluorocromo não ser permeável ao tonoplasto e não conseguir detectar alumínio complexado com ácidos orgânicos (HUANG et al., 2012).

O uso da coloração fluorescente com morin permitiram, por exemplo, mostrar que cultivares de trigo tolerantes ao Al acumulam menos  $Al^{3+}$  no apoplasto que os cultivares sensíveis, enquanto a concentração de  $Al^{3+}$  no simplasto, associada com uma inibição de 50% do crescimento da raiz, foi similar em cultivares tolerantes e sensíveis (TICE et al., 1992).

A principal vantagem da utilização da coloração fluorescente está na capacidade de localizar diferentes moléculas com alto grau de especificidade, sendo a sua sensibilidade suficientemente elevada para detectar cerca de 50 moléculas/µm<sup>3</sup> (SOUZA, 2010)

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

As sementes utilizadas nos experimentos foram provenientes de uma única planta matriz de caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) localizada em ambiente natural, na Fazenda Gameleira, município de Montes Claros de Goiás (16° 06' 20'' S – 51° 17' 11'' W, altitude de 592 m).

A exsicata do material vegetal está depositada no Herbário Jataiense, da Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí, sob o número de coleta 3793.

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação do Laboratórios de Cultura de Tecidos Vegetais, no Laboratório de Sementes e Anatomia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IFGoiano - Câmpus Rio Verde).

#### 3.1. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples

Sementes de caju-de-árvore-do-cerrado foram selecionadas e tratadas com hipoclorito de sódio (2% v/v) com imersão por 30 minutos nesta solução e após este período, foram lavadas com água deionizada para retirada do excesso de hipoclorito.

A semeadura ocorreu em bandejas de polietileno, usando areia lavada como substrato. Após o período de germinação, que durou certa de quinze dias, as plântulas foram fixadas em tampas plásticas com o auxílio de algodão e levadas para vasos com capacidade de 3 litros de solução nutritiva simples (JACOB NETO, 1993) composta de 0,1 mM de Ca na forma de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O e cinco concentrações de Al, com quatro plantas por vaso (Figura 3). O pH da solução foi ajustado para 4.0 a 4,15 com uso de solução de 1 M da HCl e 0,1 M de KOH.



**Figura 3**. Germinação e instalações do sistema hidropônico para avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva das plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz.

Antes da imersão das raízes em solução nutritiva foi avaliado o comprimento da raiz principal e verificado a presença e o estádio visual das folhas (cotiledonares e as emitidas até este período). Após a transferência para solução nutritiva, foram feitas as avaliações da taxa de crescimento radicular e elongação radicular relativa.

Parâmetros Avaliados:

- Taxa de crescimento radicular (TCR), realizada através da equação: TCR= (Cf. Ci)/( $\Delta t$ ).
- Cf. comprimento radicular final;

Ci - comprimento radicular inicial;

 $\Delta t$ : Intervalo do tempo em dias;

• Elongação radicular relativa: (ERR%) calculada de acordo com a equação proposta por Vasconcelos et al., (2002).

$$ERR = \frac{(Cf_{Alx} - Ci_{Alx})}{(Cf_{Al0} - Ci_{Al0})} \times 100$$

Onde:

ERR: elongação radicular relativa

Ci<sub>Alx</sub>: comprimento radicular inicial medido antes da exposição à solução nutritiva no nível de " x" de Al;

Cf<sub>Alx</sub>: comprimento radicular final medido após n dias de exposição à solução nutritiva no nivel " x " de Al;

Ci<sub>Al0</sub>: Comprimento radicular inicial antes da exposição à solução sem Al;

Cf<sub>Al0</sub>: Comprimento radicular final medido após n dias de exposição à solução nutritiva sem Al;

Para o estudo da tolerância ao alumínio, foram utilizadas as concentrações de 0, 150, 300, 600 e 1200  $\mu$ M de alumínio, na forma de sulfato de alumínio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·18H<sub>2</sub>O).

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo cinco doses de alumínio na solução nutritiva e cinco épocas de avaliações. Cada repetição foi constituída por um vaso com 4 plantas, totalizando 25 unidades experimentais.

A partir da data de instalação do experimento, as raízes das plântulas de *A. othonianum* Rizz. mantidas em solução nutritiva simples, foram medidas a cada 10 dias, com exceção do último intervalo que foi de 8 dias, em função do aparecimento de plântulas mortas, totalizando 48 dias de cultivo. A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e aerada constantemente através de um compressor de ar.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e para os dados significativos foi realizada análise de regressão com objetivo de verificar o comportamento das taxas de crescimento radicular nas diferentes doses de alumínio em cada época de avaliação.

#### 3.2. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva completa

Sementes de caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) provenientes do Município de Montes Claros de Goiás – GO foram selecionadas e tratadas com hipoclorito de sódio (2% v/v) com imersão por 30 minutos nesta solução e depois deste período foram lavadas com água deionizada para retirada do excesso de hipoclorito.

A semeadura ocorreu em bandejas de polietileno, usando areia lavada como substrato. Após o período de germinação, que durou cerca de quinze dias, as plântulas foram fixadas em tampas plásticas e levadas para vasos com capacidade de 3 litros de solução nutritiva completa balanceada preparada de acordo com metodologia proposta por Jacob Neto (1993), composta por 0,5 mM de N na forma de NH4NO3; 0,2 mM de Ca na forma de CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,2 mM de Mg na forma de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,5 mM de K na forma de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,1 mM de P na forma de

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 10  $\mu$ M de Fe na forma de FeNa EDTA; 0,4  $\mu$ M de Mn na forma de MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,16  $\mu$ M de Zn na forma de ZnSO<sub>4</sub>; 0,04  $\mu$ M de Cu na forma de CuSO<sub>4</sub>; 0,5  $\mu$ M de Mo na forma de MoO<sub>3</sub>; 0,04  $\mu$ M de Co na forma de CoSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e cinco concentrações de Al na forma de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·18H<sub>2</sub>O. Para o estudo da tolerância ao alumínio, foram utilizadas as concentrações de 0, 150, 300, 600 e 1200 $\mu$ M de alumínio, na forma de sulfato de alumínio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·18H<sub>2</sub>O). O pH da solução foi ajustado para 4,0 a 4,15 com uso de solução de 1 M da HCl e 0,1 M de KOH.

Antes da imersão das raízes em solução nutritiva foi avaliado o comprimento da raiz principal e verificado a presença e o estádio visual das folhas (cotiledonares e as emitidas até este período). Após a transferência para solução nutritiva foram feitas as mesmas avaliações, mais a taxa de crescimento radicular, elongação radicular relativa (ERR%), massa seca da parte aérea e da raiz.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições, sendo cinco doses de alumínio na solução nutritiva e cinco épocas de avaliações. Cada repetição foi constituída por uma vaso com 4 plantas, totalizando 20 unidades experimentais.

A partir da instalação do experimento, as raízes das plântulas de *A. othonianum* Rizz. mantidas em solução nutritiva completa, foram medidas a cada 07 dias durantes 35 dias. A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e aerada constantemente através de um compressor.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e para os dados significativos foi realizada análise de regressão afim de verificar o comportamento das taxas de crescimento radicular nas diferentes doses de alumínio em cada época de avaliação.

#### 3.3. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais

Para determinação dos teores de macronutrientes e micronutrientes nas folhas e raízes de *A.othonianum* Rizz. foram utilizadas amostras provenientes do experimento com solução nutritiva completa, após os 35 dias de cultivo. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel, e transferidas para estufa de circulação forçada a 65°C até atingir peso seco constante. Posteriormente, as amostras foram pesadas e trituradas em moinho Willey, com peneira de 20 mesh, armazenadas em frascos de vidro e encaminhadas ao Laboratório Terra – Análises para Agropecuária, localizado no município de Goiânia – GO.

Foram analisados os seguintes elementos: nitrogênio (N); fósforo (P); potássio (K); cálcio (Ca); magnésio (Mg); cobre (Cu); ferro (Fe) e manganês (Mn) conforme metodologia proposta pela Embrapa (1999).

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. Os modelos foram selecionados utilizando os maiores coeficientes de determinação e significância dos coeficientes de regressão com um nível de probabilidade de 5%.

# **3.4.** Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz.

#### 3.4.1. Plântulas crescidas em solução nutritiva simples

Para avaliar o efeito do alumínio na estrutura anatômica das raízes de *A. othonianum* Rizz. crescidas em solução nutritiva simples, amostras dos ápices radiculares das plântula, após os 48 dias de cultivo, foram fixadas em FAA<sub>50</sub>, por 48 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). As amostras foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em metacrilato (Historesin-Leica), conforme as recomendações do fabricante. O material foi seccionado longitudinalmente com 5µm de espessura, em micrótomo rotativo modelo 1508R. Posteriormente os cortes foram corados com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8 (O'BRIEN, FEDER & MCCULLY, 1964) para análise estrutural e micromorfométricas.

Para detecção de ligninas as amostras dos ápices radiculares não incluídos foram seccionadas transversalmente com auxílio de micrótomo LPC para anatomia vegetal e os cortes submetidos à coloração com floroglucina ácida (JOHANSEN, 1940).

As imagens foram obtidas em um microscópio de luz (Leica DM 500 com câmera Leica ICC 50) com sistema U-photo, do Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde. Posteriormente foram descritas e submetidas a análises micromorfométricas, sendo: diâmetro da ponta da raiz e largura, comprimento, área, perímetro das células do parênquima cortical e porcentagem da área lignificada utilizando o software ImageJ- Image Processing and Analysis in Java, versão 1.47, perfazendo um total de 3 observações/repetição para cada estrutura avaliada.

O software ImageJ foi utilização pois, além das ferramentas de medição, permite a segmentação por conglomerados representados espacialmente por diferentes sistemas de cor, permitindo também avaliar a frequência e a intensidade de cada grupo de cor (ABRÀMOFF et al., 2004).

Para determinar a localização do alumínio nos tecidos das raízes das plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) foi utilizado o morin, um fluorocromo que forma um complexo fluorescente com o alumínio é utilizado para localização desse elemento nos tecidos das plantas. As raízes foram lavadas em água destilada e posteriormente seccionadas transversalmente em micrótomo LPC para anatomia vegetal e os cortes obtidos tratados com solução de 100 µM de morin por 20 min (ETICHA et al., 2005). Posteriormente os cortes foram lavados em água destilada, montados entre lâmina e lamínula com água destilada e observados em um microscópio de fluorescência da marca Olympus modelo BX61 com câmera DP-72. Para análise de fluorescência utilizou-se cubo de excitação UV 330-385.

Para determinação da área marcada pelo morin foi utilizado com software ImageJ-Image Processing and Analysis in Java, versão 1.47, perfazendo um total de 3 observações/repetição para cada estrutura avaliada.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 3.4.2. Plântulas crescidas em solução nutritiva completa

Para avaliar o efeito do alumínio na estrutura anatômica dos ápices radiculares de plântulas de *A. othonianum* Rizz. crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio, amostras de 0,3 cm dos ápices radiculares das plântula, após os 35 dias de cultivo, foram fixadas com solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) por 24 horas, desidratadas em séria etílica crescente, pré-infiltradas e infiltradas em historesina (Historesin Leica), de acordo com as recomendações do fabricante.

O ápices radiculares foram seccionado longitudinalmente a 5µm de espessura, em micrótomo rotativo de modelo 1508R. Posteriormente os cortes foram corados com azul de toluidina – coloração policromática, a 0,05% em tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8 (O'BRIEN, FEDER & MCCULLY, 1964) para análise estrutural e micromorfométricas.

Para avaliar a localização do alumínio nos ápices radiculares, foi utilizado morin (ETICHA et al., 2005). Também foi empregado 4',6 – diamidino-2-phenylindole (DAPI) 1  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> por 20 min, um fluorocromo que se liga fortemente a regiões ricas em DNA; com o objetivo de avaliar o efeito do alumínio no DNA das células meristemática. Foram utilizados cortes de material incluído em historesina.

As imagens foram obtidas em microscópio da marca Olympus modelo BX61 com câmera DP-72, do Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde. Para análise de fluorescência utilizou-se cubo de excitação UV (DAPI) 330-385. Posteriormente, as imagens obtidas, foram descritas e submetidas a análises micromorfométricas, sendo: diâmetro da ponta da raiz; largura, comprimento, área e perímetro das células da região meristemática; densidade de núcleos na região meristemática; porcentagem da área marcada pelo morin e DAPI.

Os dados foram obtidos com auxílio do software ImageJ – Image Processing and Analysis in Java, versão 1.47, perfazendo um total de 3 observações/repetição para cada estrutura avaliada.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ou regressão polinomial.

# **3.5.** Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência das plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz. submetidas ao stress por alumínio.

Sementes de caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) selecionadas foram tratadas com hipoclorito de sódio (2% v/v) com imersão por 30 minutos nesta solução e depois deste período foram lavadas com água deionizada para retirada do excesso de hipoclorito.

No teste de emergência, foram utilizadas 400 sementes divididas em quatro repetições de 20 cada. Para avaliar o efeito do alumínio adotaram-se as concentrações de 0, 150, 300, 600 e 1200  $\mu$ M de alumínio, na forma de sulfato de alumínio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·18H<sub>2</sub>O) em solução nutritiva simples (JACOB NETO, 1993) composta de 0,1 mM de Ca. L<sup>-1</sup> na forma de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O. O pH da solução foi ajustado para 4,0 a 4,15 com uso de solução de 1 M da HCl e 0,1 M de KOH.

A semeadura foi realizada a 3 cm de profundidade em bandeja plástica de 40x30x8cm, contendo como substrato areia lavada, com duas repetições por bandeja. O substrato foi umedecido constantemente com solução de alumínio nas concentrações avaliadas e as bandejas mantidas em casa de vegetação por 30 dias. A avaliação da emergência das plântulas foi realizada até sua estabilização. Foi avaliada a porcentagem final de emergência (BRASIL, 1992), em que foram consideradas apenas as plântulas normais e o índice de velocidade de emergência de plântulas de acordo com Maguire (1962) em que observações diárias foram realizadas após a instalação do experimento, contando-se o número de plântulas emergidas por dia, dividindo esse número pelo número de dias transcorridos da data de semeadura. Foram consideradas como plântulas normais aquelas com todas as estruturas essenciais perfeitas.

Decorridos 30 dias da semeadura, as plântulas normais, oriundas do teste de emergência, foram submetidas às seguintes avaliações: comprimento de parte aérea e raiz em centímetros, massa seca de parte aérea e da raiz em gramas.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e análise de regressão.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Resultados

#### 4.1.1. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples

Nos experimentos realizados neste trabalho, por serem todos realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado, quando não ocorreu interação significativa na análise de variância (P $\leq$ 0,05) dos parâmetros testados, os efeitos foram isolados e as comparações das médias foram realizadas utilizando o Teste Tukey  $\leq$  0,05. Quando a análise de variância do experimento mostrou interação significativa (P $\leq$ 0,05), foi realizado o desdobramento das interações e as médias comparadas pelo teste Tukey  $\leq$  0,05.

As doses de Al utilizadas foram planejadas para ser adicionadas na proporção geométrica, desta forma, quando necessário, foram realizados teste de comparação das médias e também a análise de regressão.

A análise de variância das taxas de crescimento radicular das plântulas mostrou que ocorreu efeito das concentrações de alumínio no crescimento das raízes, e que estas foram influenciadas pelos dias em contato com a solução, ocorrendo interação entre os fatores (concentrações de Al x dias de cultivo) (Tabela 1). Pode ser observado que o coeficiente de variação dos experimentos não foi muito elevado.

**Tabela 1**. Análise de Variância das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio e dias de avaliação.

Fonte de Variação	Valor de F
Conc. de Al	27,43 **
Dias	165,34 **
Conc. de Al x Dias	3,82 **

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade. Conc: concentração. CV (%) = 16,84

A comparação entre as médias obtidas em função das doses de Al empregadas e dias de avaliação são apresentadas na tabela 2. Aos 10 dias da implantação do experimento, a menor taxa de crescimento radicular ocorreu no tratamento com 150  $\mu$ M de Al, porém não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos com Al. A maior taxa de crescimento ocorreu no tratamento sem Al, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos com 300, 600 e 1200  $\mu$ M de Al. Aos 20 dias, a maior média da taxa de crescimento radicular foi de 4,11 mm/dia, no tratamento sem alumínio, seguido das doses de 600, 1200 e 150  $\mu$ M que obtiveram médias menores e não diferiram estatisticamente entre si. Os tratamentos que proporcionaram as menores taxas de crescimento foram os que utilizaram as concentração de 300, 150 e 1200  $\mu$ M do Al, sendo a menor média igual a 1,45 mm/dia, correspondendo a uma redução de cerca de 64% comparado ao tratamento sem Al.

Com 30 e 40 dias, os tratamentos sem alumínio e a menor dose (150  $\mu$ M), possibilitaram as maiores taxas de crescimento radicular, seguido das demais doses com médias inferiores e iguais estatisticamente. Constatou-se uma redução de cerca de 25% da taxa de crescimento radicular, da maior dose, comparado ao tratamento sem o Al.

Ao final do experimento, com 48 dias de cultivo, o tratamento sem o Al também foi o que o proporcionou o maior crescimento, porém não diferiu estatisticamente das duas menores

doses. As menores taxas de crescimento ocorreram nas três maiores concentrações de alumínio, não diferindo estatisticamente entre si. A menor média foi de 3,73 mm/dia, observada no tratamento com 1200 µM, cerca de 26% menor que no tratamento sem o Al.

De forma geral, as maiores taxas de crescimento ocorreram a partir dos 40 dias de cultivo em solução nutritiva simples para os tratamento com 150, 300  $\mu$ M de Al, e a partir dos 30 de cultivo nos tratamento 600, 1200  $\mu$ M e sem o Al.

**Tabela 2**: Taxas de crescimento radicular (mm/dia) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas ao longo de 48 dias em uma solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio.

Conc. de Al (µM)	Dias de Cultivo				
	10	20	30	40	48
0	1,60 aC	4,11 aB	4,41 aAB	5,08 aA	5,07 aA
150	0,60 bD	1,95 bcC	3,62 abB	5,00 aA	4,79 abA
300	1,07 abC	1,45 cC	2,75 bB	3,80 bA	4,22 abcA
600	1,33 abC	2,81 bB	3,34 bAB	3,73 bAB	3,95 bcA
1200	1,04 abC	1,97 bcB	3,20 bA	3,83 bA	3,73 cA

As médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 16,44

A tabela 3 apresenta as equações da análise de regressão das taxas de crescimento radicular que melhor se adequaram à distribuição dos dados para os diferentes dias de avaliação, como avaliado pelo coeficiente de determinação. Pode ser observado que para as equações mais representativas aos 10 e 20 dias foram modelos cúbicos. Aos 30 ajustaram-se os modelos de regressão quadrática e aos 40 e 48 dias modelo linear, indicando quedas nas taxas de crescimento radicular com o incremento da concentrações de alumínio na solução nutritiva. Estas equações, confirmam os resultados demonstrados pela teste de Tukey da tabela 2.

**Tabela 3**: Equação de regressão e coeficientes de determinação das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas ao longo de 48 dias em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio.

Dias de Cultivo	Equação	R <sup>2</sup>
10	$\hat{y} = -0,000000085x^3 + 0,0000148397x^2 - 0,0060302682x + 1,5053032322$	0,68
20	$\hat{y} = -0,0000000245x^3 + 0,0000447391x^2 - 0,0201356438x + 4,0959817122$	0,99
30	$\hat{\mathbf{y}} = 0,0000022966x^2 - 0,0034898596x + 4,1590843590$	0,60
40	$\hat{\mathbf{y}} = -0,0010263144\mathbf{x} + 4,7547825260$	0,50
48	$\hat{\mathbf{y}} = -0,0010651878\mathbf{x} + 4,8352863073$	0,80

Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A figura 4 apresenta o crescimento médio das raízes de *A. othonianum* Rizz. nos diferentes tratamentos ao final dos 48 dias de cultivo. Se compararmos o crescimento das raízes das plântulas cultivadas na solução nutritiva do tratamentos sem Al e na primeira dose de Al (150  $\mu$ M) com os demais tratamentos, pode ser verificado que foi onde que ocorreu o maior crescimento, de 24,33 e 22,99 cm respectivamente. Os tratamentos com 300, 600 1200  $\mu$ M

apresentaram médias menores iguais a 20,35, 18,96 e 17,90 cm respectivamente. A diferença entre o crescimento das raízes das plântulas no tratamentos sem Al e na maior concentração de Al foi de 6,4 cm. Estes dados demonstraram o efeito mais pronunciado do alumínio, nesta dosagem e época. Pode ser observado pela equação de melhor ajuste na figura 4, que o crescimento radicular decresceu de forma linear, indicando decréscimo a partir da primeira dose de Al empregada que foi de 150  $\mu$ M. Entretanto, o crescimento radicular só seria interrompido completamente na concentração de 4547  $\mu$ M de Al.



**Figura 4**. Crescimento das raízes das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio após 48 dias de cultivo. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 24,28.

A figura 5, apresenta o aspecto visual das raízes de *A. othonianum* Rizz. aos 48 dias de contato com as soluções nutritivas com as concentrações de alumínio. Constatou-se um escurecimento das raízes e o aparecimento de manchas amareladas nas pontas. Na ausência de alumínio, as raízes permaneceram com coloração vermelha mais clara com as pontas brancas, sem manchas ou sinais de apodrecimento, como pode ser observado na letra A da figura 5. Nas plântulas que foram crescidas nas soluções com alumínio foram encontradas raízes mais fragilizadas e quebradiças que as demais plântulas, no final da avaliação aos 48 dias, como mostram as letra B, C, D e E da figura 5, para os tratamentos com Al.



**Figura 5**. Coloração natural das raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) nos diferentes tratamentos após 48 dias de cultivo. A – sem alumínio. B – 150 $\mu$ M de Al. C – 300  $\mu$ M de Al. D – 600  $\mu$ M de Al. E – 1200  $\mu$ M de Al.

A elongação (alongamento) radicular relativa (ERR%), na figura 6, é uma avaliação do comportamento do crescimento radicular das plântulas em contato com a solução de alumínio em relação às plântulas crescidas sem contato com alumínio. Dessa forma, trata-se de uma avaliação percentual do efeito do tratamento do alumínio ("*per si*"), retirando o crescimento natural das raízes que ocorre nesta condição. Os dados da ERR% demonstraram que ocorreu redução do crescimento radicular a medida que se aumentou a concentração do Al em solução, conforme análise de regressão que revelou modelo linear. De acordo com a equação não haveria elongação radicular na concentração de 5392 µM de Al.



**Figura 6.** Elongação radicular relativa (ERR %) das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) após 48 dias em solução nutritiva simples com concentrações diferentes de alumínio. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 9,93.

#### 4.1.2. Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva completa

A análise de variância dos dados do comprimento radicular das plântulas crescidas em solução nutritiva completa mostrou que ocorreu efeito das concentrações de alumínio no crescimento das raízes e que não houve interação entre os fatores (concentrações de Al x dias de cultivo) (Tabela 4).

**Tabela 4**. Análise de Variância das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio e dias de avaliação.

Fonte de Variação	Valor de F
Conc. de Al	5,87 **
Dias	11,88 **
Conc. de Al x Dias	0,59 <sup>ns</sup>
	$(-1)^{-1}$

<sup>ns</sup> Não significativo. \*\*Significativo pelo teste F, a 1% de probabilidade, respectivamente. CV (%) = 57,26.

A comparação entre as médias obtidas em função das doses de Al empregadas são apresentadas na tabela 5. A maior taxa de crescimento radicular ocorreu no tratamento sem alumínio, com média igual a 3,98 mm/dia, sendo diferente estatisticamente de todos os demais tratamentos. Já, o menor crescimento, ocorreu no tratamento com 300  $\mu$ M de Al com média igual a 1,90 mm/dia, mas não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos com Al.

**Tabela 5**: Taxas de crescimento radicular (mm/dia) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas após 35 dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio.

Concentração de Alumínio (µM)	Crescimento Radicular (mm/dia)
0	3,98 a
150	2,42 b
300	1,90 b
600	2,56 b
1200	2,16 b

Significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 57,26.

A Figura 7 apresenta a análise de regressão das taxas de crescimento radicular que melhor se adequaram à distribuição dos dados, avaliados pelo coeficiente de determinação. Ao final dos 35 dias de cultivo, apesar dos baixos ajustes revelados pelo coeficiente de determinação, a equação que melhor se adequou à distribuição dos dados foi o modelo de regressão linear, indicando redução progressivo das taxas de crescimento em função do aumento das concentrações de Al. Utilizando a equação pode ser determinado que a taxa de crescimento atingiria o valor zero na concentração de 3376 µM de Al.



**Figura 7.** Análise de regressão das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 57,26.

Na avaliação do efeito dos dias de cultivo sobre as taxas de crescimento radicular, a equação que melhor se adequou a distribuição dos dados foi o modelo de regressão quadrático, que indicou aumento das taxas de crescimento ao longo dos dias de cultivo, sendo a maior taxa, de acordo com a equação, igual a 3,5 mm/dia com 29 dias na solução nutritiva (Figura 8).


**Figura 8.** Regressão das taxas de crescimento radicular de plântulas de caju-de-árvore-docerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa em função dos dias de avaliação. Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 26,92.

A figura 9 apresenta o crescimento médio das raízes de *A. othonianum* Rizz. nos diferentes tratamentos ao final dos 35 dias de cultivo. As raízes das plântulas cultivadas na solução nutritiva sem o Al apresentaram o maior crescimento radicular, com média igual a 13,93 cm. Os demais tratamentos apresentaram médias menores, sendo os tratamentos com 300 e 1200  $\mu$ M de Al os que proporcionaram o menor crescimento, 6,65 e 7,56 cm respectivamente. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados, foi o linear, apesar do baixo coeficiente de determinação e alto coeficiente de variação. O crescimento seria paralisado completamente na concentração de 3390  $\mu$ M de Al.



**Figura 9.** Crescimento das raízes das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio ao final dos 35 dias de cultivo. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 57,26.

A Figura 10 ilustra o aspecto visual das plantas de *A. othonianum* Rizz. mantidas em solução nutritiva completa por 35 dias. Observou-se o maior comprimento das raízes no tratamento sem Al comparado aos demais tratamentos com concentrações crescentes do metal. Além disso, constatou-se que nos tratamentos com Al, as plântulas apresentaram raízes mais grossas com muitas raízes laterais curtas e grossas, além de frágeis e quebradiças.



**Figura 10.** Aspecto visual das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio aos 35 dias.

Na avaliação da massa seca das raízes e parte aérea, constatou-se resultados não significativos (Tabela 06), apesar do tratamento sem Al apresentar raízes com maior comprimento. Provavelmente o estímulo à produção de raízes mais grossas e numerosas raízes laterais nos tratamentos com alumínio foi responsável por médias próximas de peso seco do sistema radicular nos diferentes tratamentos.

**Tabela 6:** Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz das plântulas de caju-de-árvore-docerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) crescidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio aos 35 dias.

Conc. de Alumínio	MSPA (g/planta) ns	MSR (g/planta) <sup>ns</sup>
0	0,63	0,30
150	0,44	0,20
300	0,53	0,27
600	0,51	0,19
1200	0,52	0,23
CV (%)	40,90	23,34

<sup>ns</sup> - não significativo; FV - Fonte de Variação; MSPA - Massa seca da parte aérea; MSR - Massa seca da raiz.

A elongação (alongamento) radicular relativa (ERR%), na figura 11, evidenciou que as concentrações de 300 e 1200  $\mu$ M de Al promoveram o menor crescimento radicular, com ERR iguais a 52,57% e 54,86% respectivamente. A menor queda foi nas plântulas mantidas em solução com 600  $\mu$ M de Al com uma taxa de elongação de 67,59%. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados, foi o linear, apesar do baixo coeficiente de determinação e elevado coeficiente de variação. A paralização completa ocorreria na concentração de 3524  $\mu$ M de Al.



**Figura 11.** Elongação radicular relativa (ERR %) de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) após 35 dias em solução nutritiva completa com concentrações diferentes de alumínio. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 29,84.

#### 4.1.3. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais

A análise de variância referente ao efeito do alumínio na absorção de macro e micronutrientes, mostrou que houve efeito significativo das concentrações do Al nos teores de N, P, Ca e Mg, nas folhas e raízes; Cu, Fe e Mn apenas nas raízes; e K apenas nas folhas.

Dentre os macronutrientes, Ca, Mg e P foram os mais afetados em seus teores pelas doses de Al. Para o cálcio, tanto nas folhas quanto nas raízes, o tratamento com  $300\mu$ M de Al foi o que proporcionou as menores médias, sendo de 2,5 mg g<sup>-1</sup> nas folhas e 1,8 mg g<sup>-1</sup> nas raízes, correspondendo a uma redução de 50,69% e 35,71% em relação ao acumulado no

tratamento sem Al, respectivamente. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou a distribuição dos dados foi o quadrático e indicou que nas folhas o menor teor de cálcio foi igual a 2,19 mg g<sup>-1</sup> na concentração de 770,94  $\mu$ M de Al, enquanto que nas raízes o menor teor de cálcio foi 1,62 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 765,76  $\mu$ M de Al (Figura 12).



**Figura 12**. Análise de regressão dos teores de cálcio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 17,78 (folha) e 2,66 (raiz).

Para o magnésio as menores médias foram 2,4 mg g<sup>-1</sup> encontrado na folha e 1,7 mg g<sup>-1</sup> na raiz, ambas no tratamento com 300  $\mu$ M de Al, significando uma redução de 31,43% e 30,61%, comparado ao tratamento sem Al, respectivamente. A análise de regressão revelou que ocorreu queda linear dos teores de Mg nas folhas com o aumento das concentrações de Al na solução nutritiva, apesar do baixo coeficiente de determinação. Nas raízes, o modelo que regressão que melhor ajudou a distribuição dos dados foi o quadrático, sendo o menor teor de Mg revelado pelo equação igual a 1,64 mg g<sup>-1</sup> na concentração de 745,87  $\mu$ M de Al (Figura 13).



**Figura 13**. Análise de regressão dos teores de magnésio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 13,13 (folha) e 8,55 (raiz).

Os teores de fósforo foram reduzidos nos tratamentos com as maiores doses de Al. Nas folhas a menor média foi 3,15 mg g<sup>-1</sup> para os tratamentos com 600 e 1200  $\mu$ M de Al, correspondendo a uma redução de 10% comparado ao tratamento sem Al. Nas raízes as menores médias foram 4,3 e 5,6 mg g<sup>-1</sup>, significando uma redução de 37,68 e 18,84% respectivamente, em relação aos tratamentos sem Al. Para ambos os órgãos vegetais, a dose de 150  $\mu$ M proporcionou aumento nos teores de fósforo, sendo cerca de 20% nas folhas e 30,43% nas raízes. A equação que melhor se adequou à distribuição dos dados foi o modelo de regressão cúbica e indicou que na folhas o menor teor de fósforo revelado pela equação foi igual a 2,5 mg g<sup>-1</sup> para uma concentração de 934,11  $\mu$ M de Al, enquanto que a maior foi igual a 3,87 mg g<sup>-1</sup> para uma concentração de 179,94  $\mu$ M de Al. Nas raízes, o menor teor de fósforo revelado pela equação foi 2,18 mg g<sup>-1</sup> para uma concentração de 130,62  $\mu$ M. Dessa forma, para ambos os órgãos, mas principalmente na raiz, ficou demonstrado que concentrações baixas de alumínio estimulam a absorção de fósforo (Figura 14).



**Figura 14**. Análise de regressão dos teores de fósforo nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 9,73 (folha) e 6,22 (raiz).

Na avaliação dos teores de nitrogênio nas folhas, constatou-se que a maior média foi igual 36 mg g<sup>-1</sup> para o tratamento com 300  $\mu$ M de Al, sendo equivalente a um aumento de 39,8% quando comparado ao tratamento sem Al. As doses maiores proporcionaram menores teores de nitrogênio e corresponderam a um aumento de 18,44% e 19,41% em relação ao acumulado no tratamento sem Al. Nas raízes, o menor teor de nitrogênio foi igual a 30,5 mg g<sup>-1</sup> nas concentrações de 600 e 1200  $\mu$ M de Al, correspondendo a uma redução de 4,68% comparado ao acumulado no tratamento sem Al. Com relação a análise de regressão, constatou-se que para ambos os órgãos vegetais o modelo que melhor se ajustou a distribuição dos dados foi o cúbico. Nas folhas o menor teor de nitrogênio revelado pela equação foi igual a 24,7 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 950,59  $\mu$ M de Al, enquanto que o maior teor foi de 35,2 mg g<sup>-1</sup> para uma concentração de 309,97  $\mu$ M. Nas raízes, o menor teor de nitrogênio, de acordo com a equação, foi 23,78 mg g<sup>-1</sup> para uma concentração de 947,3  $\mu$ M de Al, enquanto que o maior teor de nitrogênio foi igual a 37,79 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 240,62  $\mu$ M. Sendo assim, de acordo com os dados, concentrações baixas de Al podem estimular a absorção de nitrogênio enquanto que concentrações mais altas reduzem a absorção desse elemento (Figura 15).



**Figura 15**. Análise de regressão dos teores de nitrogênio nas folhas e raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 2,94 (folha) e 3,70 (raiz).

Os teores de potássio nas folhas, com exceção do tratamento com 600  $\mu$ M de Al, apresentaram quedas, sendo a menor média igual a 12,4 mg g<sup>-1</sup> no tratamento com 300  $\mu$ M de Al, correspondendo a uma redução de cerca de 17% comparado ao acumulado no tratamento sem Al. Na análise de regressão, o modelo que melhor ajustou-se à distribuição dos dados foi o cúbico e indicou que o menor teor de potássio foi de 12,82 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 222,54  $\mu$ M de Al, já o maior teor foi igual a 19,06 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 905,64  $\mu$ M de Al, indicando maior acúmulo de potássio nessa concentração. Nas raízes os resultados não apresentaram diferenças (Figura 16).



**Figura 16**. Análise de regressão dos teores de potássio nas folhas e raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. <sup>ns</sup> – não significativo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 9,24 (folha) e 8,37 (raiz).

Com relação aos micronutrientes avaliados nas raízes, observou-se um efeito negativo do aumento das doses de alumínio sobre os níveis de Fe, proporcionando redução, sendo a maior para a concentração de 1200  $\mu$ M de Al, com teor de Fe igual a 0,521 mg g<sup>-1</sup>, equivalendo a uma redução de 27% em relação ao tratamento sem Al. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados foi o cúbico, e indicou que o menor teor de ferro foi igual a 0,54 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 268,78  $\mu$ M de Al, enquanto que o maior foi igual 0,74 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 879,8  $\mu$ M (Figura 17).



**Figura 17**. Análise de regressão dos teores de ferro nas folhas e raízes de plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. <sup>ns</sup> – não significativo. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 25,97 (folha), 14,44 (raiz).

O cobre, nas raízes, foi afetado negativamente pelas três maiores concentração do Al, com média igual a 0,023 mg g<sup>-1</sup> no tratamento com 1200  $\mu$ M, correspondendo a uma redução de 21,6% comparado ao tratamento sem Al; já a dose de 150  $\mu$ M teve efeito positivo, com média igual a 0,037 mg g<sup>-1</sup>, correspondendo a um aumento de 23,3% comparado ao tratamento sem Al. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados foi o cúbico, e indicou que de acordo que a equação, o menor teor de cobre foi igual a 0,028 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 708,39  $\mu$ M de Al, enquanto que o maior teor foi igual a 0,033 mg g<sup>-1</sup> para a concentração de 163,60  $\mu$ M, confirmando que concentrações altas de alumínio levam a uma menor absorção de cobre. Nas folhas, os resultados não foram significativos (Figura 18).



**Figura 18**. Análise de regressão dos teores de cobre nas folhas e raízes plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. <sup>ns</sup> – não significativo. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 47,77 (folha), 12,84 (raiz).

Para o manganês nas raízes, observou-se efeito positivo para todos os tratamentos com Al, sendo que a maior dose (1200  $\mu$ M) proporcionou um aumento de 33,77% frente ao acumulado pelo tratamento sem Al que obteve média igual a 0,039 mg g<sup>-1</sup>. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados foi o linear, indicando aumento dos teores de manganês com o aumento das concentrações de Al na solução nutritiva. Nas folhas, os resultados não foram significativos (Figura 19).



**Figura 19**. Análise de regressão dos teores de manganês nas folhas e raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.  $^{ns}$  – não significativo. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 11,06 (folha), 10,63 (raiz).

# 4.1.4. Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz.

### 4.1.4.1. Plântulas crescidas em solução nutritiva simples

Nos cortes longitudinais das raízes das plântulas de *A. othonianum* Rizz. cultivadas em solução nutritiva simples com alumínio ocorreram alterações anatômicas e no diâmetro dos ápices radiculares que foi maior nos tratamentos com as maiores concentrações de Al (Figura 20). A figura 20 A corresponde a ponta de uma raiz de uma plântula de caju que cresceu em solução simples, sem adição de alumínio, podendo ser observado os tecidos organizados e com pouca quantidade ou ausência total de células mortas e lesões. Camadas de células mortas começam a aparecer na figura 20 B e aumentam gradativamente até a figura 20 E, que corresponde a maior dosagem de Al utilizada no experimento, também ocorreu destacamento de células epidérmicas em função da presença do Al (Figura 20 B e C). Na figura 20 C, observase um meristema apical desorganizados, não sendo possível reconhecer as regiões correspondentes ao promeristema e procâmbio. É possível também observar na figura 20 D que a coifa está se destacando após provavelmente a morte do meristema.



**Figura 20.** Micrografias óticas de cortes longitudinais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) corados com azul de toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio por 48 dias. Observou-se o engrossamento das raízes, além de lesões em diferentes regiões dos tecidos (setas) e células epidérmicas se destacando em função da presença do Al (cabeça de seta) nos diferentes tratamentos, sendo: A – sem Al; B – 150  $\mu$ M de Al; C – 300  $\mu$ M de Al; D – 600  $\mu$ M de Al e E -  $\mu$ M de Al. Barras = 200  $\mu$ m.

A figura 21, apresenta em maior aumento o aspecto das células do parênquima cortical das raízes nos diferentes tratamento. A sequência de fotos sugere o efeito do alumínio, pois as células da figura 21 A estão com aspecto normal, enquanto que a medida que as concentrações de alumínio aumentam, conforme indicado nas imagens da figura 21 B até E, evidência o efeito do alumínio nas células parenquimáticas, constatando-se que nas doses mais elevadas do metal, as células ficaram menores com paredes tortuosas.



**Figura 21.** Micrografias óticas de cortes longitudinais do parênquima do córtex de raízes de plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) corados com azul de toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de Alumínio por 48 dias. Notou-se o efeito do alumínio no tamanho e forma das células

parenquimáticas das raízes nos diferentes tratamentos, sendo: A – Sem Al; B – dose 150  $\mu$ M de Al; C - dose 300  $\mu$ M de Al; D - dose 600  $\mu$ M de Al e E - dose 1200  $\mu$ M de Al. Seta: detalhe da parede celular. Barras: 50  $\mu$ m.

A análise micromorfométrica dos cortes longitudinais das raízes de *A. othonianum* Rizz. coradas com azul de toluidina é apresentado na tabela 7. Constatou-se o efeito do alumínio sobre o diâmetro das pontas das raízes e nas dimensões das células do parênquima do córtex em função das diferentes doses empregadas. Para o diâmetro das pontas das raízes, a maior média foi observada nas plântulas cultivadas com a maior dose de alumínio (1200  $\mu$ M), com média igual a 728,06  $\mu$ m e diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, correspondendo a uma aumento de 49% no diâmetro das raízes comparado ao tratamento sem o alumínio, que por sua vez, obteve estatisticamente a menor média. Além disso, nos cortes obtidos do córtex radicular, constatou-se alterações no tamanho das células, sendo que o maior comprimento foi observado no tratamento com 150  $\mu$ M de alumínio, com média igual 45,87  $\mu$ m; já a menor média ocorreu no tratamento com 300  $\mu$ M, porém esse último não diferiu estatisticamente das duas maiores doses, que por sua vez não diferiram do tratamento sem alumínio.

A largura das células do parênquima do córtex radicular foi maior quando da utilização da concentração de 150  $\mu$ M de alumínio e não diferiu estatisticamente do tratamento sem o metal; enquanto que as menores médias ocorreram nas três maiores concentrações de alumínio que foram estatisticamente iguais. As maiores médias de área e perímetro celular também foram observadas nas raízes da plântulas cultivadas na concentração de 150  $\mu$ M de alumínio, enquanto que as menores ocorreram nos tratamentos com as três maiores doses para a variável aérea e nos tratamentos com 300 e 1200  $\mu$ M para a variável perímetro.

Conc. de Al (µM)	Diâmetro da ponta da raiz (µm)	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Área (µm <sup>2</sup> )	Perímetro (µm)
0	367,87 d	95,31b	29,56 ab	2865,07 b	249,75 b
150	486,60 c	163,81a	30,31 a	4941,33 a	388,25 a
300	461,51 c	45,87 c	21,81 bc	977,53 c	135,37 c
600	607,83 b	92,89 bc	14,15 c	1694,65 bc	261,11 b
1200	728,06 a	49,34 bc	16,27 c	808,70 c	144,99 c
<b>CV</b> (%)	07,87	28,00	19,57	38,47	22,23

**Tabela 7**. Diâmetro da ponta das raízes e análise micromorfométrica das células do parênquima de preenchimento do córtex das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio.

Significativo ao nível de 1% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De forma geral, os dados micromorfométricos, indicaram que na ausência de alumínio e na dose mais baixa avaliada (150  $\mu$ M), as células do parênquima do córtex radicular são maiores, porém doses mais elevados promovem redução das dimensões celulares.

O teste histoquímico com Floroglucinol revelou uma maior lignificação nos tecidos das raízes das plântulas de *A. othonianum* Rizz. mantidas em solução com Al (Figura 22).



**Figura 22.** Micrografias óticas de cortes transversais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) corados com floroglucinol após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio por 48 dias. A coloração avermelhada indica a presença de lignina nas paredes das células das raízes nos diferentes tratamentos, sendo: A e B - Sem Al; C – dose 150  $\mu$ M de Al; D - dose 300  $\mu$ M de Al; E - dose 600  $\mu$ M de Al e F - dose 1200  $\mu$ M de Al. Barras: 50  $\mu$ m.

Em doses maiores observou-se uma maior área lignificada, sendo a dose de 1200  $\mu$ M a que apresentou a maior média, porém não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos com presença de Al na solução. A menor porcentagem de área marcada pelo corantes ocorreu no tratamento sem o Al, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos com 150 e 600  $\mu$ M de Al (Tabela 8)

Concentração de Al (µM)	Área (%)		
0	4,06 b		
150	11,42 ab		
300	16,71 a		
600	11,41 ab		
1200	22,12 a		

**Tabela 8**. Porcentagem da área lignificada nos tecidos das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva simples aos 48 dias.

Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV(%) = 33,66.

A fluorescência verde do morin-Al indicou a presença de alumínio em algumas células parenquimática, mas principalmente no floema das raízes das plântulas mantidas em solução nutritiva com Al (Figura 23). A figura 23 A, mostra um corte transversal da raiz de caju do tratamento sem alumínio, constando-se quase ausência de fluorescência verde do morin-Al. Já nos tratamentos com Al, como demonstrado nas figura 23 B até F, constatou-se forte fluorescência verde do morin-Al nos tecidos vasculares, principalmente no floema, e algumas células parenquimáticas, como destacado na Figura 23 F. A fluorescência foi mais acentuada nos tecidos das raízes do tratamento com 1200  $\mu$ M de Al, indicando a maior concentração desse elemento nas raízes desse tratamento. A presença desse metal no interior de células vasculares, tais como as células do floema, pode indicar algum mecanismo de transporte para outras partes do corpo vegetal. Destaca-se ainda a autofluorescência azul observada na endoderme e xilema das raízes apenas nos tratamentos com alumínio. A autofluorescência azul revelada em luz ultravioleta indica a presença de lignina nesses tecidos, confirmando que o alumínio estimula a lignificação dos tecidos das raízes, assim como também foi constatado no experimento anterior realizado com floroglucionol e indicado anteriormente na figura 22 e tabela 8.



**Figura 23**. Micrografias de fluorescência de cortes transversais de raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) tratados com o fluorocromo morin após terem sido mantidas em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio. A fluorescência verde do morin-Al indica a presença de alumínio nos tecidos dos diferentes tratamentos, sendo: A – sem Al; B – dose 150  $\mu$ M de Al; C - dose 300  $\mu$ M de Al; D - dose 600  $\mu$ M de Al e E - dose 1200  $\mu$ M de Al; F – detalhe da fluorescência em uma célula parenquimática. En: endoderme; Fl: floema; Pa: parênquima; Xi: xilema. A até E com barras de 100  $\mu$ m e F com barra de 40  $\mu$ m.

Conforme indicado na tabela 9, a porcentagem da área marcada pelo morin aumentou conforme incremento das doses de alumínio, sendo que a maior média foi de 14,94% obtida no tratamento com 1200  $\mu$ M de Al e diferiu estatisticamente de todos os demais tratamentos, seguido dos tratamentos com 600 e 300  $\mu$ M que forma iguais estatisticamente e do tratamento com 150  $\mu$ M que diferiu estatisticamente dos demais. Já a menor média foi igual a 2,48 %, observada no tratamento sem o Al e também diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

Concentração de Al (µM)	Área (%)
0	2,48 d
150	4,33 c
300	6,35 b
600	7,62 b
1200	14,94 a

**Tabela 9**. Porcentagem da área marcada pelo fluorocromo morin em cortes transversais das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva simples aos 48 dias.

Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV(%) = 7,55.

### 4.1.4.2. Plântulas crescidas em solução nutritiva completa

Os cortes dos ápices radiculares corados com azul de toluidina revelaram no tratamento sem alumínio raízes mais delgadas (Figura 24 A), com meristemas apicais constituídos por pequenas células meristemática justapostas com núcleo bem evidente, além disso, as células apresentaram vacúolos extremamente pequenos distribuídos no citoplasma que ocupa uma grande área celular (Figura 24 B). Já nos tratamentos com alumínio, observou-se raízes mais grossas (Figura 24 C e E; Figura 25 A), com exceção das raízes provenientes do tratamento com a maior dose, que foi mais delgada que a dos demais tratamentos com Al (Figura 25 C). Nos tratamentos com Al, também constatou-se que as células meristemáticas foram mais largas, com vacúolos grandes e numerosos e menor número de núcleos por unidade de área, além da presença de espaços intercelulares (Figura 24 C, D, F e Figura 25 B e D).



**Figura 24.** Micrografias óticas de cortes longitudinais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) corados com azul de Toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio por 35 dias, sendo os tratamentos: A e B – Sem Al; C e D – dose 150  $\mu$ M de Al; E e F - dose 300  $\mu$ M de Al. As Fotos da esquerda demonstram o engrossamento dos ápices radiculares com o aumento das concentrações de Al, enquanto que as fotos da direita demonstram o aspecto das células meristemáticas nos diferentes tratamento. A, C e E com barras de 200  $\mu$ m; B, D e F com barras de 20  $\mu$ m.



**Figura 25.** Micrografias óticas de cortes longitudinais de raízes de plântulas de caju-de-árvoredo-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) corados com azul de Toluidina após terem sido mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio por 35 dias, sendo os tratamentos: A e B – dose 600  $\mu$ M de Al; C e D - dose 1200  $\mu$ M de Al. As Fotos da esquerda demonstram o engrossamento dos ápices radiculares com o aumento das concentrações de Al, enquanto que as fotos da direita demonstram o aspecto das células meristemáticas nos diferentes tratamento. A e C com barras de 200  $\mu$ m; B e D com barras de 20  $\mu$ m.

A análise de variância das medidas do diâmetro das pontas das raízes, das dimensões das células meristemáticas e densidade de núcleos, com exceção do comprimento celular, demonstrou efeito significativo dos tratamentos (Tabela 10). Para o diâmetro dos ápices radiculares, a menor média ocorreu no tratamento sem Al, seguido da maior dose (1200  $\mu$ M), porém não diferiram estatisticamente entre si. Já o maior diâmetro, ocorreu no tratamento com 600  $\mu$ M, porém não diferiu estatisticamente dos demais tratamento com Al.

A maior média de largura celular ocorreu no tratamento com 300  $\mu$ M e a menor média, no tratamento com 1200  $\mu$ M e no tratamento sem Al. As maiores médias para área celular também foram observadas no tratamento com 300  $\mu$ M, mas não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos com Al; já as menor média ocorreu no tratamento sem Al, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos com 150, 600 e 1200  $\mu$ M. Para o perímetro, a menor média ocorreu no tratamento sem Al, e foi igual estatisticamente as médias obtidas na duas maiores concentrações do metal; já a maior média ocorreu no tratamento com 300  $\mu$ M de Al e foi igual estatisticamente as médias obtidas nos tratamentos com 150 e 600 $\mu$ M.

A maior densidade de núcleos no meristema apical ocorreu na ausência de Al na solução nutritiva. Os tratamentos com Al obtiveram médias menores e não diferiram estatisticamente entre si.

Conc. de Al (µM)	Diâmetro da ponta da raiz (µm)**	Comprimento (µm) <sup>ns</sup>	Largura (µm)**	Área (µm²) **	Perímetro (µm)**	Densidade de núcleos (Núcleos/mm <sup>2</sup> )**
0	479,56 b	10,15	11,72 c	122,24 b	44,61 c	3,82 a
150	728,33 a	10,85	19,25 b	216,64ab	61,80 ab	2,57 b
300	720,97 a	12,45	27,25 a	347,92a	78,12 a	1,84 b
600	763,71 a	14,34	17,92 b	223,06ab	61,45 abc	1,69 b
1200	656,77ab	13,82	16,5 bc	205,43ab	59,20 bc	2,29 b
CV (%)	14,09	17,81	15,04	29,48	12,87	18,82

**Tabela 10**. Diâmetro da ponta das raízes e análise micromorfométrica das células do meristema apical das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.

<sup>ns</sup> Não significativo, \* e \*\*Significativo pelo teste F, a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A fluorescência verde do morin-Al indicou a presença de alumínio nos ápices radiculares nos tratamentos com Al. Com exceção do tratamento sem Al, onde houve ausência de fluorescência pelo morin-Al (Figura 26 B), os demais tratamentos apresentaram células com fluorescência verde, indicando a presença do Al no interior dos ápices radiculares (Figura 26 D e F; Figura 27 B e D). A Figura 27 E apresenta em destaque núcleos com forte fluorescência pelo morin-Al, além do citoplasma com fluorescência azul, na ausência de alumínio (Figura 26 A), enquanto que nos demais tratamentos a quantidade de núcleos e intensidade da fluorescência foi menor, caracterizando uma redução na quantidade de DNA, principalmente nas duas maiores concentrações de alumínio (Figura 26 C e E; Figura 27 A e C).



**Figura 26.** Micrografias de fluorescência de cortes longitudinais de raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) tratados com os fluorocromos DAPI (fotos da esquerda) e morin (fotos da direita) após terem sido mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio por 35 dias, sendo: A e B – Sem Al; C e D - dose 150  $\mu$ M de Al; E e F - dose 300  $\mu$ M de Al. A fluorescência verde indica a presença de alumínio e a azul a presença de DNA. A, C e E com barras de 100  $\mu$ m; B, D e F com barras de 50  $\mu$ m.



**Figura 27.** Micrografias de fluorescência de cortes longitudinais de raízes de plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) tratados com os fluorocromos DAPI (fotos da esquerda) e morin (fotos da direita) após terem sido mantidas em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio por 35 dias, sendo: A e B – dose 600  $\mu$ M de Al; C e D - dose 1200  $\mu$ M de Al. A figura E apresenta destaque em maior aumento mostrando fluorescência verde no núcleo e citoplasma das células meristemáticas. A cor verde indica a presença de alumínio e a azul a presença de DNA. A e C com barras de 100  $\mu$ m; B e D com barras de 50  $\mu$ m.

A análise de variância dos dados de porcentagem da área marcada pelos fluorocromos nas raízes de *A. othonianum* Rizz. é apresentada na tabela 11. Os resultados demonstraram que nos tratamentos com as duas maiores concentrações de Al, obteve-se a maior área marcada pelo morin. Por outro lado, as menores médias foram obtidas nos tratamentos sem Al e na menor concentração (150  $\mu$ M), sendo iguais estatisticamente.

O DAPI marcou uma maior área nos cortes obtidos das raízes de plântulas cultivas sem Al, enquanto que as menores médias foram observadas nas três maiores concentrações desse metal. Dessa forma, os resultados indicam que o aumento das concentrações de alumínio proporcionaram a maior distribuição do metal por unidade de área nos tecidos, conforme foi observado nos resultados obtidos com o morin. Já a redução da área marcada pelo DAPI à medida que se aumentou as concentrações de alumínio pode indicar um efeito genotóxico do metal nas células de *A. othonianum* Rizz., inibindo o processo de replicação e consequentemente a divisão celular. **Tabela 11**. Porcentagem da área e intensidade de fluorescência dos fluorocromo Morin e DAPI em raízes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa.

Concentração de Al (µM)	Área (%) Morin	Área (%)DAPI
0	0,71 c	16,63 a
150	1,50 bc	8,25 b
300	2,88 b	6,61 bc
600	5,55 a	2,19 c
1200	6,59 a	3,20 c
CV (%)	27,45	29,91

Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A razão morin/DAPI aumentou com o incremento das concentrações de alumínio. Pela análise de regressão, constatou-se que a maior média igual 4,04 para a concentração de 934,11  $\mu$ M de Al (Figura 28).



**Figura 28.** Razão Morin/ DAPI da porcentagem da área marcada nos ápices radiculares cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio em solução nutritiva completa. Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 64,64.

# 4.1.5. Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz. submetidas ao stress por alumínio.

As plântulas de *A. othonianum* Rizz., apresentaram diferenças quanto a sua morfologia, quando comparadas às plântulas cultivadas em substrato com e sem Al. As plântulas cultivadas sem Al apresentaram maior vigor, com folhas bem expandidas e com coloração intensa,

epicótilo e raízes com maior comprimento, quando comparado aos demais tratamentos. Também foi observado que de acordo com o aumento das dosagens de Al, as plântulas apresentaram menor comprimento total, assim como no sistema radicular (Figura 29).



**Figura 29.** Avaliação do efeito de diferentes concentrações de alumínio na emergência e índice de velocidade de emergência de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.). Aspecto das plântulas obtidas nos diferentes tratamentos. A – Controle; B – dose 150  $\mu$ M de Al; C - dose 300  $\mu$ M de Al; D - dose 600  $\mu$ M de Al e E - dose 1200  $\mu$ M de Al.

O percentual de plântulas emergidas foi afetada pela presença de Al dos tratamentos, uma vez que as menores médias de emergência foram observados nos tratamentos com diferentes doses desse elemento. O tratamento sem Al apresentou a maior porcentagem de emergência, a qual foi cerca de 50% maior que os demais tratamentos.

Na análise de regressão, ajustou-se o modelo quadrático tanto para porcentagem de emergência, quanto para o índice de velocidade de emergência, constatando quedas nas médias com o aumento nas doses de Al até a concentração mais elevada, onde houve um pequeno incremento dos índices. Para os dados de porcentagem de emergência, de acordo com a equação, o menor percentual foi igual a 19,72% para uma concentração de 738,19  $\mu$ M de Al (Figura 30). Já, para o índice de velocidade de germinação, a menor média foi igual a 0,143 para a concentração de 707,12  $\mu$ M de Al (Figuras 31).



**Figura 30**. Análise de regressão da porcentagem de emergência das plântulas de caju-deárvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) em resposta a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 32,86.



**Figura 31**. Análise de regressão do índice de velocidade de emergência das plântulas de cajude-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) em resposta a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 34,30.

Plântulas cultivadas em substrato sem Al apresentaram maior comprimento da parte aérea (10,23 cm), enquanto que as menores médias foram observadas nos tratamentos com 600  $\mu$ M e 1200  $\mu$ M, com médias iguais a 7,96 e 8,84 cm, respectivamente. Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou à distribuição dos dados foi o cúbico e indicou, de acordo com a equação, que o menor comprimento da parte aérea ocorreu na concentração de 1103,49  $\mu$ M de Al com média igual a 4,95 cm, enquanto que na concentração de 83,83  $\mu$ M de Al obteve-se o maior comprimento com média igual a 10,25 cm (Figura 32).



**Figura 32**: Análise de regressão do comprimento da parte aérea de plântulas caju-de-árvoredo-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 5,98.

Para o sistema radicular, o maior comprimento também foi observado na ausência do Al, sendo ao maior média igual a 5,95 cm, e a menor média foi igual a 1,94 cm na maior dose

avaliada (1200  $\mu$ M); constando-se uma redução com diferença de 67,44% no comprimento radicular, comparado ao tratamento sem Al. Na análise de regressão, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou a distribuição dos dados, obtendo o maior coeficiente de determinação e indicou, de acordo com a equação, a menor média para o comprimento da raiz igual 1,23 cm quando as plântulas são cultivadas em solução nutritiva com concentração de Al igual a 832,25  $\mu$ M (Figura 33). Portanto, pode-se constatar uma interferência do alumínio no crescimento das raízes, uma vez que plântulas cultivadas sem esse metal apresentaram medias superiores de crescimento, mostrando mais uma vez a inibição do crescimento causada pelo Al.



**Figura 33**: Análise de regressão do comprimento da raiz de plântulas caju-de-árvore-docerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 17,77.

Assim como para o comprimento de parte aérea e raiz, plântulas cultivadas sem Al apresentaram as maiores médias de peso seco da parte aérea e peso seco da raiz, comparados aos demais tratamento, sendo que a maior dose foi a que proporcionou as menores médias, conforme análise de regressão. De acordo com as equações, atingir-se-ia zero de massa seca na parte aérea e raiz nas concentrações de alumínio iguais a 2738,47 e 1739,19 µM de Al, respectivamente (Figuras 34 a 35).



**Figura 34**. Análise de regressão da massa seca da parte aérea de plântulas caju-de-árvore-docerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 18,83.



**Figura 35**. Análise de regressão da massa seca da raiz de plântulas caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio aos 30 dias. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade. CV (%) = 25,99.

#### 4.2. Discussão

#### 4.2.1 Avaliação do crescimento radicular em solução nutritiva simples e completa

De acordo com Matsumoto et al. (2000), a rápida resposta da raiz ao alumínio indica que num primeiro momento esse elemento inibe a expansão e elongação das células das raízes, e depois a divisão celular também passa a ser inibida. O sítio da toxicidade do Al está localizado no ápice da raiz, desta forma, se este é afetado, o crescimento radicular é inibido. Por esta razão,

na maioria das pesquisas com alumínio, o comprimento radicular é usado como parâmetro de análise de toxicidade (SIVAGURU et al., 1999).

A. othoniaum Rizz. apresentou menor crescimento radicular quando cultivado em solução nutritiva simples ou completa com alumínio, sendo constatado queda nas taxas de crescimento radicular a partir na menor concentração utilizada, que foi de 150  $\mu$ M de Al . Porém, como demonstrado no experimento com solução nutritiva simples, com 30, 40 e 48 dias de cultivo, no tratamento com 150  $\mu$ M, o crescimento radicular foi estatisticamente igual ao do tratamento sem Al. Esse resultado indicou que a espécie apresenta maior tolerância ao Al nessa concentração. Resultados semelhantes foram observados por Fortunato e Nicoloso (2004), que avaliaram os efeitos do Al<sup>3+</sup> no crescimento de plântulas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) por 11 dias e observaram que as plantas jovens são tolerantes à presença de Al<sup>3+</sup> no substrato de cultivo até a concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, sendo constatado fitotoxidez nas concentrações maiores. Resultados similares também foram obtidos por Basso et al. (2000) em plântulas de *Adesmia* submetidas a doses de alumínio em solução nutritiva.

No experimento com solução nutritiva completa, as médias das taxas de crescimento radicular nos tratamentos com alumínio foram em geral menores e iguais estatisticamente entre si, quando comparadas ao tratamento sem esse elemento, demonstrando, assim como no experimento com solução nutritiva simples, efeito fitotóxico do alumínio. Porém, a queda nas taxas de crescimento e elongação radicular, foram mais acentuadas na solução completa que na solução simples.

De modo geral, a composição da solução nutritiva interfere na atividade fitotóxica dos íons de alumínio em solução devido sua interação com os radicais aniônicos, formando complexos solúveis. Deste modo, com uso de soluções simples pode-se identificar melhor os efeitos da toxidez pois o alumínio estará mais disponível na solução (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006). Além disso, alguns componentes da solução nutritiva completa, nas concentrações utilizadas, podem ter contribuído, juntamente com o alumínio, na redução do crescimento radicular. Haag et al. (1975) avaliou o efeito da deficiência de diferentes macronutrientes na espécie comercial de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), e constataram que a espécie é exigente em K, e que na omissão de Ca e/ou Mg, as plantas absorveram quantidades maiores de K, desenvolvendo-se mais, além disso, indicaram que os níveis de Ca e Mg nas soluções utilizadas inibiram seu crescimento. Dessa forma, possivelmente as concentrações de alguns nutrientes na solução nutritiva completa podem também ter prejudicado o crescimento do caju-de-árvore-do-cerrado.

A elongação radicular relativa é um dado importante usando pelos pesquisadores para retirar o natural crescimento que as raízes têm em condições normais de desenvolvimento do crescimento anormal sofrendo um processo fitotóxico do alumínio (ROSSIELO & JACOB-NETO, 2006). Porém, ela preconiza que o efeito da toxidez que está ocorrendo no tratamento com alumínio seja devido somente a esse elemento, não podendo sofrer interferências de outros efeitos negativos no crescimento radicular (KINREIDE, 1985).

A elongação radicular relativa das plântulas de *A. othonianum* Rizz. foi menor nos tratamentos com alumínio, nas duas soluções nutritivas avaliadas. Esse resultado é semelhante ao de Braccini et al. (2000), que observaram que a elongação radicular em genótipos de café foi afetada pelo alumínio, assim como Marin & Santos (2008) que também observaram efeitos desse metal no sistema radicular de plantas de guandu. Resultados similares também foram obtidos por Batista et al. (2013) trabalhando com milho, Macedo et al. (2011), trabalhando com Pinhão-Manso; e Pereira et al. (2008), trabalhando com sorgo; onde constaram que o Al reduziu o crescimento das raízes.

A queda nas taxas de crescimento radicular e elongação radicular relativa nos tratamentos com Al nas soluções nutritivas avaliadas, indicam que esse elemento é um fator limitante no crescimento de *A. othonianum* Rizz., provocando redução no crescimento

radicular, o que faz com que a planta explore menos volume de solo, o que consequentemente afeta a absorção de água e nutrientes, prejudicando dessa forma o seu desenvolvimento normal. Esses dados corroboram com o trabalho de Naves (1999), que associou a distribuição restrita dessa espécie no cerrado brasileiro às características do solo, onde as plantas mais desenvolvidas (maior área basal) ocorrem com a diminuição da saturação em alumínio no solo.

Oliveira (2012), avaliou a tolerância ao alumínio em diferentes variedade de cana-deaçúcar e constatou que para a maioria das variedades avaliadas, a inibição do crescimento radicular ocorreu em concentrações altas de alumínio, sendo que na variedade "93090432" a completa paralização do crescimento radicular ocorreu em concentrações superiores a 3000  $\mu$ M de Al. Em espécies arbóreas também são relatados efeitos tóxicos do alumínio quando em concentrações altas, como por exemplo, observado por Nascimento (1998) que avaliou o efeito do alumínio no crescimento do angico-vermelho.

Outra espécie que tem seu crescimento e produtividade reduzidos pelos efeitos do alumínio é Anacardium occidentale L., uma espécie comercial de cajueiro. Em documento publicado pelo Embrapa Agroindustria Tropical, Aquino et al. (2004) afirmam que o decréscimo da produtividade dos pomares dessa espécie de cajueiro no estado do Piauí, de 570 kg.ha-1 de castanha em 1978, para 220 kg ha-1 de castanha em 2002, está relacionado, dentre outros fatores, à toxidez de alumínio e à baixa fertilidade dos solos onde está sendo cultivado, recomendando a incorporação de calcário afim de se minimizar esses efeitos. Segundo Ramos et al., (1994), 91% dos solos dessa região são fortemente ácidos a extremamente ácidos e que o alumínio trocável, na microrregião Alto Parnaíba tem os maiores níveis, com mais de 1,0 cmolc dm-3 em 62% dos solos estudados e com pH inferior a 4,3. Dessa forma, apesar de Anacardium occidentale L. se estabelecer em solos ácidos com altas concentrações de alumínio, seu crescimento e produtividades são prejudicados. Nossos resultados indicam que *A. othonianum* Rizz. tem comportamento similar, uma vez que o alumínio afetou seu crescimento e absorção de nutrientes.

Com relação ao aspecto visual das plântulas de *A. othonianum* Rizz. cultivado nas soluções com alumínio, sintomas similares aos obtidos no presente trabalho foram observados por Scheffer-Basso et al. (2000), trabalhando com duas espécies do gênero *Adesmia* quando submetidas a doses de alumínio em solução, sendo também demonstrando engrossamento e tortuosidade das raízes.

As alterações na coloração das raízes e o aparecimento de manchas amareladas nos ápices radiculares observados nesse trabalho, também estão de acordo com as informações de Peixoto et al. (2007). Segundo esses autores, as raízes apresentam engrossamento e amarelamento nas pontas, degeneradas, tortuosas, com ramificações secundárias, escuras em parte pela oxidação de compostos fenólicos.

Lenoble et al. (1996) relataram também que os danos causados pelo Al<sup>+3</sup> podem ser prevenidos pelo boro, micronutriente relacionado à biossíntese de compostos fenólicos. O acúmulo de compostos fenólicos e o aumento na atividade da polifenoloxidase resultam na produção de intermediários reativos que, indiretamente, podem intensificar a produção de radicais livres (SAKIHAMA & YAMASAKI, 2002). Após tratamentos prolongados com Al<sup>+3</sup>, as raízes das plantas tornam-se escuras, o que, em parte, é decorrente da oxidação de compostos fenólicos (CAKMAK & HORST, 1991).

#### 4.2.2. Efeitos do alumínio na absorção de elementos minerais

Pesquisas têm demostrado que o Al no meio de crescimento pode influenciar na absorção de nutrientes, principalmente de P, Ca e Mg (LÓPEZ-BUCIO et al., 2000). Fato esse também observado no presente estudo, onde constatou-se que o alumínio diminuiu a absorção da maioria dos nutrientes nas plântulas, tendo a seguinte ordem de redução nas raízes:

P>Ca>Mg>N para os macronutrientes e Fe>Cu para os micronutrientes; nas folhas a redução seguiu a ordem: Ca>Mg>P. Por outro lado, as maiores concentrações de alumínio aumentaram os teores de N e K nas folhas e Mn nas raízes. Os teores de K nas raízes, e Fe, Cu e Mn nas folhas, não foram afetados pelas concentrações de alumínio.

Onthong e Osaki (2006), avaliaram as adaptações de diferentes espécies de plantas tropicais em solos ácidos, dentre elas, *Anacardium occidentale* L., e constataram que o alumínio reduziu as concentrações de N, P, K, Ca e Mg nas raízes dessa espécie comercial de cajueiro. O percentual de queda nos teores desses elementos foram similares ao observado no presente estudo com *A. othonianum* Rizz.

De acordo com Faquin e Vale (1991) e Malavolta et al. (1997), o alumínio, quando na forma solúvel, além de causar fitotoxidez nas plantas, compete com outros cátions, principalmente Ca e Mg, pelos mesmos sítios de absorção no complexo de troca. Dessa forma, a redução na absorção desses íons na presença de alumínio na solução possivelmente ocorreu em função do alumínio bloquear o canal iônico responsável pela absorção desses elementos, devido à semelhança entre o raio iônico desses íons. Resultados com a mesma tendência foram constatados por Tecchio et al. (2005) em videira e Lin (2010) em abacaxi; Ribeiro et al. (2013) em cacau.

O maior teor de P nas raízes, comparado ao obtido nas folhas, pode ser explicado, segundo Giannakoula et al. (2008), devido ao fato do Al precipitar com o P no apoplasto da raiz, reduzindo a translocação desse elemento para a parte aérea. Já, uma maior concentração de P apenas nos tratamentos com doses baixas de Al, como observado no presente estudo, pode caracterizar um mecanismo de desintoxicação interna. Zheang et al. (2005) trabalhando com duas cultivares de trigo, uma tolerante e outra sensível ao Al, constataram que a maior resistência ao Al no trigo estava relacionada à capacidade da cultivar tolerante em imobilizar e desintoxicar o Al pelo fósforo nos tecidos da raiz. A cultivar tolerante teve concentrações de P e Al nas raízes significativamente maiores que na cultivar sensível, enquanto que a capacidade de secreção de ácidos orgânicos alumínio dependente foi igual para ambas as cultivares.

Com relação ao nitrogênio, Tecchio et al. (2005) também constaram aumentos nas concentrações desse elemento em porta-enxerto de videira IAC 572 "Jales", cultivadas em solução nutritiva nas concentrações mais baixas de Al, com queda nas concentrações mais elevadas do metal, ajustando-se um modelo de regressão quadrático.

Shamsi et al. (2007) também observaram que com a adição de Al ao meio nutritivo houve redução na concentração da maioria dos nutrientes nas raízes e parte aérea de soja; porém K, Mn aumentaram. Por outro lado, Giannakoula et al. (2008) verificaram que a concentração de K nas raízes e parte aérea das duas linhagens diminuiu em tratamento com Al, sendo mais pronunciado na linhagem sensível do que na tolerante.

Silva, (2012) afirma que as diferenças na absorção de nutrientes, acumulação e translocação são evidentes entre as espécies de plantas e dentro de uma mesma espécie. Porém, uma vez que cada autor utilizou diferentes concentrações de Al, diversas formulações de solução nutritiva e tempos variados de exposição, é difícil fazer um modelo geral e preciso de desequilíbrios nutricionais causados pelo Al.

### 4.2.3. Efeito do alumínio na anatomia dos ápices radiculares das plântulas de Anacardium othonianum Rizz. crescidas em solução nutritiva simples e completa

Alterações anatômicas provocadas pelo alumínio também foram observados por Wagatsuma et al. (1995), em raízes de ervilha, por Delima e Copeland (1994), em raízes de trigo, e por Lenoble et al. (1996), em raízes de abóbora. Nos tratamentos com Al<sup>+3</sup> ocorreu engrossamento dos ápices radiculares, sintoma também relatado por Delhaize e Ryan (1995) e por Sasaki et al. (1996) em trigo. O espessamento, aparentemente, é causado pela inibição do

alongamento celular (SASAKI et al., 1996). Segundo Grabski e Schindler (1995), o enrijecimento da rede de filamentos de actina, provocado pelo Al<sup>+3</sup>, interfere na divisão celular, o que também contribui para a ocorrência desses espessamentos.

Neste trabalho foi observado o aspecto desorganizado da região correspondente ao meristema apical e espessamento de camadas celulares correspondentes a coifa também são relatados na literatura. Esta região, segundo alguns autores (BENNET & BREEN, 1991; RYAN et al., 1993; ELEFTHERIOU et al., 1993), é a mais afetada pelo Al<sup>+3</sup> sob condições de estresse. Segundo esses autores, nas raízes mantidas sob condições de estresse ocorrem alterações morfoestruturais, especialmente no tamanho da zona meristemática, além de danos nas células epidérmicas e em células internas do córtex, que podem se destacar, distorcer e até mesmo colapsar, sintomas similares aos observados no presente trabalho.

Alguns pesquisadores apontam ainda que tais lesões radiculares provocadas pela toxicidade do alumínio podem causar uma desorganização das estruturas e das funções das membranas, paralisação da síntese de DNA e das mitoses, enrijecimento das paredes celulares, redução no alongamento celular e distúrbios na assimilação e no metabolismo mineral nos ápices das raízes, com reflexo direto na nutrição da planta (ELEFTHERIOU et al., 1993; DELHAIZE & RYAN, 1995).

Delima e Copeland (1994) indicam que os efeitos sobre as células meristemáticas como, por exemplo, as reduções no crescimento das raízes, tornam-se evidentes apenas após exposição mais prolongada ao Al<sup>+3</sup>. Dessa forma as alterações simultâneas no alongamento e na espessura celular sugerem que os efeitos do Al<sup>+3</sup>, direta ou indiretamente, afetam diversos processos relacionados à expansão celular (NICHOL et al., 1993). Essas informações corroboram que o presente estudo, onde foi constatado efeito no alumínio na diminuição das dimensões celulares, principalmente nas duas maiores concentrações avaliadas. Além disso, outra evidencia aponta para que a inibição do elongamento celular pode ser devido ao resultado de, pelo menos em parte, alterações nas células da coifa, que agem como sensores do estresse ambiental (MARSCHNER, 1991). *A. othonianum* Rizz. respondeu aos efeito do Al produzindo uma coifa mais espessa nos tratamentos com as duas maiores concentrações de Al.

No final dos anos 70, Naidoo et al. (1978) constataram que muitas destas alterações são consequências do alto acúmulo de Al no núcleo das células, conforme foi observado por esses pesquisadores utilizando a técnica de microanálise por raios X. Já, Qin et al. (2013) constataram alterações na localização celular e expressão de proteínas nucleolares em células da ponta da raiz de *Allium cepa* var. agrogarum L. submetidas a stress com Alumínio. O estudo indicou que Al tem efeitos tóxicos sobre Ag-NOR proteínas, nucleofosmina e nucleolin e outros tipos de proteínas nucleolares.

O aumento da produção de compostos fenólicos pode estar associado ao efeito tóxico do alumínio no sistema radicular como um mecanismo de tolerância. Barceló et al. (2002) observaram que alguns compostos fenólicos podem formar complexos estáveis com o Al<sup>+3</sup>, contribuindo para a sua desintoxicação nos tecidos. A lignina, avaliada no presente estudo, é um composto fenólico que contribui para a redução dos danos causados pelo Al<sup>+3</sup>, o que possivelmente ocorre devido ao consumo de compostos fenólicos e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante a sua deposição na parede celular (SASAKI et al., 1996). Sakihama e Yamasaki (2002), por sua vez, ressaltaram que, sob condições de estresse, compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes e, em contraste, também, como moléculas pró-oxidantes, num dualismo de ação já observado para outras substâncias.

Xue et al. (2008), avaliando o efeito bioquímico de óxido nítrico exógeno e ácido metil jasmônico para investigar as propriedades de sinal e de síntese de lignina sob stress com Al em *Cassia tora*, constatando que a aplicação do ácido metil jasmônico em 10  $\mu$ M promovia sensibilidade da raiz para o Al ativando atividade da peroxidase apoplástica e consequentemente acumulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e lignina, enquanto a ação oposto, foi encontrado para

óxido nítrico. Dessa forma, conforme reforçado por esses estudos, o Al pode estimular a produção de lignina nas plantas, fato esse também contatado no presente estudo.

Muitas mudanças estruturais resultantes do efeito tóxico do Al também foram observadas nas células meristemáticas da raiz de *A. othonianum* Rizz. mantidas em solução nutritiva completa, como o aumento do tamanho e número de vacúolos que passam a ocupar significativamente o citoplasma. Esse processo de vacuolização do citoplasma pode estar relacionado ao aumento das concentrações de alumínio na solução nutritiva, como um mecanismo de desintoxicação através do sequestro do alumínio presente no citosol para o interior do vacúolo onde pode ser complexado a ácidos orgânicos. De acordo com Kochian et al. (2004) esse é um dos mecanismos de desintoxicação interna que ocorre em plantas tolerantes.

Além de alterações no interior das células, também são relatados efeitos do alumínio na parede celular, como no presente estudo onde observou-se que as células das raízes nos tratamentos com as maiores concentrações de Al apresentaram parede celular tortuosa ou colapsada. Segundo Horst et al. (2010) a parede celular desempenha importantes papéis na manifestação e percepção da toxicidade ao alumínio.

Bello et al. (2012), avaliou o efeito do alumínio na divisão e alargamento celular em plântulas de arroz de diferentes variedades. De acordo com os autores, os resultados evidenciaram que o alumínio provocou uma aumento na largura e intensa vacuolização das células do meristema fundamental e que a redução no comprimento radicular foi causado em primeiro lugar por uma inibição da divisão celular. Na avaliação do índice mitótico, como indicador de crescimento, demostrou-se um efeito importante neste processo, e que houve redução na porcentagem das células na fase mitótica na presença do íon.

Conforme exposto acima, este processo sugere que o alumínio pode afetar alguns elementos na interfase que impediria a entrada das células na fase mitótica. Essas informações corroboram com o presente estudo, onde também ocorreu alargamento das células meristemáticas e redução na quantidade de núcleos, provavelmente devido a interferência do alumínio nós processos de divisão celular.

Um dos melhores métodos para rápida detecção, localização e distribuição do alumínio nos tecidos vegetais é a utilização de método de fluorescência, como a que utiliza o fluorocromo morin (ETICHA et al., 2005), permitindo detectar alumínio no citoplasma e núcleo celular, porém não é capaz de marcar o alumínio ligado à parede celular ou compartimentalizado no vacúolo. A não coloração pelo morin nos vacúolos pode ser atribuída ao fato deste fluorocromo não ser permeável ao tonoplasto e não conseguir detectar alumínio complexado com ácidos orgânicos (HUANG et al., 2012).

De acordo com Yang et al. (2008), no simplasto, os principais alvos do Al são o ATP, GTP, ácidos nucléicos, vesículas de transporte endossomal e citoesqueleto. Recentemente Achary et al. (2010) avaliaram o feito genotóxico do alumínio em células de raízes de *Allium cepa*, e demonstraram que em altas concentrações o Al induz danos ao DNA, porém, quando em pequenas concentrações, pode proporcionar respostas adaptativas conferindo proteção genômica frente ao risco genotóxico imposto pelo íon. Essas informações corroboram que o presente estudo, onde foi observado que concentrações crescentes de Al, na solução nutritiva, diminuíram a área marcada pelo DAPI, um fluorocromo utilizado para localizar DNA nas células. Enquanto que a razão Morin/DAPI aumentou, indicando que a porcentagem da área corresponde ao Al e DNA nos tecidos das raízes são inversamente proporcionais, visto que com o aumento da área marcada pelo morin com o incremento das concentrações de Al na solução nutritiva, tem-se uma redução da porcentagem da área marcada pelo DAPI.

Silva et al. (2000) avaliaram a entrada do Al presente em solução nutritiva em células meristemáticas das raízes de duas variedades de soja, sendo uma sensível e outra tolerante, utilizando técnicas de microscopia de fluorescência com o fluorocromos DAPI e lumogallion.

Os resultados demonstraram que em ambas as variedades, o alumínio se acumulou principalmente no núcleo das células meristemáticas, afetando os processos de divisão celular e consequentemente o crescimento radicular, principalmente na variedade sensível.

Zheng et al. (2005), assim como no presento estudo, detectaram alumínio em células das raízes de duas cultivares de trigo mantidas por 10 dias em solução de AlCI<sub>3</sub>, através da utilização do morin como marcador fluorescente utilizando microscopia confocal. Trabalhos semelhantes com morin também localizaram alumínio absorvido em células das raízes de tabaco (VITORELLO & HAUG, 1996), trigo (TICE et al., 1992), milho (JONES et al., 2006).

A presença de Al, conforme foi indicado utilizando o fluorocromo morin, através de microscopia de fluorescência, pode indicar que *A. othoniaum* Rizz. possui algum mecanismo interno de desintoxicação. Segundo Mariano et al. (2005) e Fernandes (2006), esse mecanismo consiste na planta possibilitar a penetração do Al na célula, tendo a sua ação fitotóxica reduzida ou mesmo neutralizada por enzimas ou ainda, isolada no interior do vacúolo, local onde ocorre a complexação dos cátions.

Trabalhando com *Anacardim occidentale* L., Onthong e Osaki (2006) constataram que quando as plantas dessa espécie de cajueiro cultivadas em solução nutritiva completa com 10 mg L<sup>-1</sup> de alumínio e sem fósforo, as plantas acumularam 0,66 e 3,72 g Kg<sup>-1</sup> de alumínio no caule e raiz, respectivamente. Além disso, nessas condições, o cajueiro aumentou a exsudação de ácido oxálico e a concentração de ácido cítrico nas raízes, indicando que a espécie utiliza-se desses dois ácidos orgânicos para complexar o Al, externo e internamente na raiz, para minimizar os efeitos tóxicos esse elemento e consequentemente aumentar a aquisição de fósforo.

Haridasan (2008) relaciona diferentes espécies de Melastomataceae, Rubiaceae e Vochysiaceae nativas do cerrado que permitem a entrada do alumínio nas raízes e transporte desse metal para outras partes da planta através do floema. Segundo o autor as folhas jovens dessas plantas podem acumular de 1000 a 4000 mg Kg<sup>-1</sup> de alumínio nas folhas mais jovens. Essa informações corroboram com presente estudo pois constatou-se, através de técnica de microscopia de fluorescência utilizando o morin, a presença do alumínio no floema de *A. othonianum* Rizz. indicam que essa espécie também pode apresentar mecanismos de transporte desse metal para outras partes da planta.

# **5.2.4.** Taxa de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de *Anacardium othonianum* Rizz. submetidas ao stress por alumínio.

A germinação das sementes pode ser fortemente influenciada pelas condições ambientais, dentre esses fatores está a presença de altas concentrações de alumínio em solos com pH ácido. Porém, são poucas as informações disponíveis na literatura que abordam os efeitos do alumínio sobre a germinação de sementes. Apesar disso, como já se sabe que o alumínio afeta a divisão celular, síntese de proteínas e parede celular, isso pode indicar um efeito negativo sobre a germinação das sementes.

No presente estudo, foi demostrado que o alumínio reduziu a porcentagem de emergência e velocidade de emergência das plântulas de *A. othoniaum* Rizz., também forma observados quedas na massa seca da parte aérea e raiz, além do menor comprimento radicular. Segundo Stefanello et al. (2006), situações estressantes que ocorrem durante a fase de germinação podem originar plântulas com menor taxa de crescimento devido apresentarem uma menor capacidade de transformação do suprimento de reserva e menor capacidade de incorporalos ao eixo embrionário, resultando dessa forma em um menor acúmulo de biomassa. Dessa forma, o alumínio pode reduzir a germinação, uma vez que exerce influências sobre o metabolismo também das sementes, pois as membranas celulares são afetas quando expostas

as concentrações de alumínio, aumentando sua permeabilidade e culminando com o efluxo dos solutos do interior (Macedo et al., 2008).

Yamashita e Guimarães (2011) trabalhando com duas espécies de *Conyza*, também constataram que a germinação dessas duas espécies foram reduzidas pela presença de alumínio no substrato, havendo decréscimos significativos a partir de 1,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> para as sementes de ambas as espécies, enquanto a velocidade de germinação foi prejudicada a partir da menor concentração (0,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) de alumínio testada. Por outro lado Jamal et al. (2006) avaliando o feito do alumínio e cromo na germinação e crescimento de *Prosopis juliflora*, observaram que o alumínio e cromo sozinhos ou combinados não apresentaram efeitos sobre a germinação e biomassa seca da espécie estudada.

## **5. CONCLUSÕES**

- O alumínio afetou o crescimento das raízes de caju-de-árvore-do-cerrado em ambas soluções nutritivas avaliadas, observando-se quedas nas taxas de crescimento e elongação radicular relativa, sendo constatado fitotoxidez a partir de 150 µM de Al na solução.
- O alumínio diminuiu a absorção da maioria dos nutrientes nas plântulas, tendo a seguinte ordem de redução nas raízes: P>Ca>Mg>N para os macronutrientes e Fe>Cu para os micronutrientes; nas folhas a redução seguiu a ordem: Ca>Mg>P. Por outro lado, as maiores concentrações de alumínio aumentaram os teores de N e K nas folhas e Mn nas raízes. Os teores de K nas raízes, e Fe, Cu e Mn nas folhas, não foram afetados pelas concentrações de alumínio.
- As análises micromorfométricas indicaram efeito significativo do alumínio no diâmetro dos ápices radiculares, comprimento, largura, área e perímetro das células do meristema apical e parênquima cortical, além de estimular a lignificação dos tecidos da raiz e intensa vacuolização das células meristemáticas.
- A redução da área marcada pelo fluorocromo DAPI e marcação pelo morin em regiões do núcleo celular indicaram essa região como um dos alvos da toxidez do alumínio, afetando processos de divisão celular e consequentemente o crescimento das raízes e absorção de nutrientes.
- O alumínio reduziu a porcentagem de emergência e velocidade de emergência das plântulas, sendo também observado redução na massa seca da parte aérea e raiz, além do menor comprimento radicular.
- Apesar do alumínio ter reduzido as taxas de crescimento e elongação radicular das plântulas de caju-de-árvore-do-cerrado, o crescimento das raízes não foi interrompido mesmo na maior concentração avaliada. Mesmo assim, para essa espécie, o estabelecimento em solos Latossolos com alta concentração de alumínio pode ficar comprometido, pois o crescimento radicular ficaria limitado.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÀMOFF, M.D.; MAGALHÃES, P.J.; RAM, S.J. Image Processing with Image J. Biophotonics international, v. 11, p. 36 – 42, 2004.

ACHARY, V.M. M.; JENA, S.; PANDA, K.K.; PANDA, B.B. Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. Ecotoxicology and Environmental Safety. v.70, p.300–310, 2008.

ACHARY, V.M.M.; PANDA, B.B. Aluminium-induced DNA damage and response to genotoxic stress in plant cells are mediated through reative oxygen intermediates. Mutagenesis, v.25, n.2, p.201-209, 2010.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; LIMA, A.; LIMA, M.V. Determinação de taninos em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido. Química Nova, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.

AHN, S.J.; SIVAGURU, M.; CHUNG, G.C.; Rengel, Z.; Matsumoto, H. Aluminum-induced growth inhibition is associated with impaired efflux and influx of H<sup>+</sup> across the plasma membrane in root apices of squash (*Cucurbita pepo*). Journal of Experimental Botany.v.53, p.59–66, 2001.

AKESON, M.A.; MUNNS, D.N.; BURAU, R.G. Adsorption of Al<sup>3+</sup> to phosphatidylcholine vesicles. Biochimica et Biophysica Acta. v.986, p.33–40, 1989.

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.

AQUINO, A.R.L.; OLIVEIRA, F.N.S.; ROSSETTI, A.G. Correção do solo para cultivo do cajueiro no cerrado Piauiense. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004, 20p. (Documentos, 81).

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. Environmental and Experimental Botany, Oxford, v.48, n.1, p.75-92, 2002.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C.; VÁZQUEZ, M.D.; GUNSÉ, B. Aluminum phytotoxicity. A challenge for plant scientists. Fertilizer Research, v.43, p217–23, 1996.

BARROS, L.M.; CRISÓSTOMO, J.R. Melhoramento Genético do Cajueiro. In: ARAÚJO, J. P.P. e SILVA, V.V. Cajucultura: Modernas Técnicas de Produção. EMBRAPA-CNPAT, Fortaleza, p. 73-96, 1995.

BASSO, L.H.M.; LIMA, G.P.P.; GONÇALVES, A.N.; VILHENA, S.M.C.; PADILHA, C.C. F. Efeito do alumínio no conteúdo de poliaminas livres e atividadeda fosfatase ácida durante o crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivadas in vitro. Revista Scintia Florestalis, Piracicaba, n. 75, p. 9-18, 2007

BASSO, S.M.S.; AGNOL, M.D.; CAETANO, J.H.S.; JACQUES, A.V.A. Crescimento de plântulas de *Adesmia ssp.* submetidas a doses de alumínio em solução nutritiva. Ciência Rural, v.30, n.2, p.217-222, 2000.

BATISTA, M.F.; MOSCHETA, I.S.; BONATO, C.M.; BATISTA, M.A.; ALMEIDA, O.J.G.; INOW, T.T. Aluminum in corn plants: influence on growth and morphoanatomy of root and leaf. Revista Brasileira de Ciências do Solo, v.37(1), p.177, 2013.

BELLO, I.Á.; ESCOBAR, I.M.R.; TESTILLANO, P.S.; RISUEÑO, M. del C. Efectos del alumínio em la división y el alargamento celular em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). Cultivos Tropicales, v.33, n.1, p.35-40, 2012.

BENNET, B.J.; BREEN, C.M. The recovery of the roots of *Zea mays* L. from various aluminium treatments: Towards elucidating, the regulatory processes that underlie root growth control. Environmental and Experimental Botany, Amsterdam, v. 31, n. 2, p. 153-163, 1991.

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 de alumínio. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, v. 24, n. 1, p. 59-68, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de sementes. Brasília: DNPV-DISEM, 1992. 365 p.

CAKMAK, I.; HORST, J.H. Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max). Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.

CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; SERENO, M.J.C.M.; BARBOSA NETO, J.F. Tolerância ao alumínio em plantas: toxicidade, mecanismos e genes em espécies cultivada. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v.14, n.3-4, p.01-10, 2008.

CORRALES, I.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Boron-induced amelioration of aluminum toxicity in a monocot and a dicot species. Journal Plant Physiology. v.165, p.504–513, 2008.

DEGENHARDT, J.; LARSEN, P.B.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant alr-104 is caused by aluminum-induced increase in rhizosphere pH. Plant Physiology, Rockville, v.117, n.1, p.19-27, 1998.

DELHAIZE, E.; GRUBER, B.D.; RYAN, P.R. The roles of organic anion permeases in aluminum resistance and mineral nutrition. Federation of European Biochemical Societies Letters, v. 581. p. 2255-2262, 2007.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. Plant Physiology, Lancaster, v.107, p.315-321, 1995.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R.; HEBB, D.M.; YAMAMOTO, Y.; SASAKI, T.; MATSUMOTO, H. Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the ALMT1 gene. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, Washington, v.101, n.42, p.15249-15254, 2004.

DELIMA, M.L.; COPELAND, L. Changes in the ultrastructure of the root tip of wheat following exposure to aluminum. Australian Journal of Plant Physiology, Collingwood, v. 21, n. 1, p. 85-94, 1994.

DODGE, C.S.; HIATT, A.J. Relationship of pH to ion uptake imbalance by varieties of wheat (*Triticum vulgare*). Agronomy Journal, Madison v.64, n.4, p.476-481, 1992.

ECHART, C.L; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. Revista Ciência Rural, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.

ELEFTHERIOU, P.E.; MOUSTAKAS, M.; GRAGISKOS, N. Aluminate-induced changes in morphology and ultrastructure of *Thinopyrum roots*. Journal of Experimental and Botany, London, v. 44, n. 2, p. 427-436, 1993.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa Solos/Embrapa Informática Agropecuária/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

ETICHA, D.; STASS, A.; HORST, W.J. Localization of aluminium in the maize root apex: can morin detect cell wall-bound aluminium? Journal of Experimental Botany, v. 56, p.1351–1357, 2005.

FAÇANHA, A.R.; OKOROKOVA – FAÇANHA, A.L. Inhibition of phosphate uptake in corn roots by aluminum-fluoride complexes. Plant Physiology, v.129 (4), p.1763-1772, 2002.

FAGERIA, N.K.; WRIGHT, R.J.; BALIGAR, V.C. Rice cultivar response to aluminium in nutrient solution. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 19, n. 7/12, p. 1133-1142, 1988.

FAQUIM, V.; VALE, F.R. Toxidez de alumínio e manganês. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.15, n.170, p.17-28, 1991.
FERNANDES, M.S. Nutrição mineral de plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2006. 432p.

FERREIRA, M. B. Frutos comestíveis do DF (II): gabirobas, araçás, amoreira e cajus. Cerrado, v.05, 1973. p. 25-29.

FERREIRA, R. P; MOREIRA, A; RASSINI, J. B. Toxidez de alumínio em culturas anuais. Embrapa. São Carlos, SP. p. 6, 2006.

FORTUNATO, R.P.; NICOLOSO, F.T. Toxidez de alumínio em plântulas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride). Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n. 1, 2004.

FOY, C. D. & SILVA, A. R. DA. Tolerances of wheat germplasm to acid subsoil. Journal of Plant Nutrition, v. 14, p. 1277-1295, 1991.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review of Plant Physiology, v. 29, p.511-56, 1978.

FRANTZIOS, G.; GALATIS, B.; APOSTOLAKOS, P. Aluminum effects on Microtubule Organization in Dividing Root-Tip Cells of *Triticum turgidum*. Journal of Plant Research, v.114, p.157-170, 2001.

FREITAS, F.A; KOPP, M.M; SOUSA, R.O; ZIMMER, P.D; CARVALHO, F.I.F; OLIVEIRA, A.C. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. Revista Ciência Rural, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 72-79, 2006.

FROTA, P.C.E. Clima e fenologia. In: LIMA, V. P. M. S. A cultura do cajueiro no nordeste do Brasil. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, p. 63-80, 1988.

FURLANI, P.R.; DUARTE, A.P.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Tolerância ao alumínio em cultivares de milho. In: DUARTE, A.P.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. (Coords). Fatores bióticos e abióticos em cultivares de milho e estratificação ambiental: avaliação IAC/CATI/Empresas – 1999-2000. Campinas: Instituto Agronômico, 2000, p. 19-29. (Boletim Científico, 5)

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. Journal of Plant Physiology, Stuttgart, v. 165, n. 4, p. 385-396, 2008.

GRABSKI, S.; SCHINDLER, M. Aluminum induces rigor within the actin network of soybean cells. Plant Physiology, Rockville, v. 108, n. 3, p. 897-901, 1995.

GREVENSTUK, T., ROMANO, A. Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: Where do we stand? Metallomics, v.5, p. 1584-1594, 2013.

GUPTA, N.; GAURAV, S.S.; KUMAR, A. Molecular Basis of Aluminium Toxicity in Plants: A Review. American Journal of Plant Sciences, v.4, p-21-37, 2013.

HAAG, H.P.; SARRUGE, J.R.; DE OLIVEIRA, G.D.; DECHEN, A.R. Nutrição mineral do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). I – Deficiência dos macronutrientes – Nota Prévia. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, v.32, p.185-190, 1975.

HAMILTON, C.A.; GOOD, A.G.; TAYLOR, G.J. Induction of vacuolar ATPase and mitochondrial ATP synthase by aluminum in the aluminum-resistant cultivar of wheat. Plant Physiology, v.125, p. 2068-2077, 2001.

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.12, p.54-64, 2000.

ROSSI, M.; MATTOS, I.F.A.; COELHO, R.M.; MENK, J.R.F.; ROCHA, F.T.; PFEIFER, R.M.; MARIA, I.C. de. Relação solos/vegetação em área natural no Parque Estadual de Porto Ferreira, São Paulo. Revista do Instituto Florestal, v.17, p.45-61, 2005.

HARIDASAN, M. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. Brazilian Journal of Plant Physiology, v.20 (3), p.183-195, 2008.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; MAIA, L.C.; FONSECA, D.A.R.; REIS, C.E.S.

Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 2, p. 219-228, 2007.

HORST W.J.; WANG, Y.; ETICHA, D. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: A review. Annals of Botany (London), v.106, p.185-197, 2010.

HUANG, C.F.; YAMAJI, N.; CHEN, Z.; MA, J.F.A tonoplast-localized half-size ABC transporter is required for internal detoxification of aluminum in rice. The Plant Journal, v.69 (5), p.857–867, 2012.

IKEDA, H.; TADANO, T. Ultrastructural changes of the root tip cells in barley induced by a comparatively low concentration of aluminum. Soil Science and Plant Nutrition, v.39, p.109-117, 1993.

JACOB NETO, J. The interations of  $H^+/OH^-$  exchanges between roots and rhizosphere with plant nutricion and aluminium effects. Dundee, University of Dundee, 1993. 281p. (Tese de Doutorado).

JACOB NETO, J.; RAVEN, J. A.; WOLLENWEBER, B. Aluminium in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAVY METALS IN THE ENVIROMENT, 1991, Edinburg. Proceedings. Edinburg, CEP Consultants, p. 103-106, 1991.

JAMAL, S.H.N.; IGBAL, M.Z.; ATHAR, M. Effect of aluminum and chromium on the growth and germination of mesquite (*Prosopis juliflora* Swartz.)DC. International Journal of Environmental Science and Technology, v.3 (2), p.173, 2006.

JAN, F. & PETERSSON, S. Varietal diversity of upland rice in sensitivity to aluminium. Journal of Plant Nutrition, v. 12, n. 9, p. 973- 993, 1989.

JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc., 1940. 423p. JONES, D.L.; BLANCAFLOR, E.B.; KOCHIAN, L.V.; GILROY, S. Spatial coordination of aluminum uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. Plant Cell Environment, v.29, p.13–18, 2006.

JONES, D.L.; GILROY, S.; LARSEN, P.B.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Effects of aluminum on cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> homeostasis in root hairs of *Arabidopsis thaliana* (L.) Planta, v.206, p.378-387, 1998.

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 (11), p.1913-1922, 1995.

KALOVOULOS, J.M. & MISOPOLINOS, N.D. Aluminium detection on corn roots by the quinalizarin method. Plant Soil, v.74, p.131-132, 1983.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology, v. 27, p. 137-138, 1965.

KASAI, M.; SASAKI, M.; YAMAMOTO, Y.; MATSUMOTO, H. Aluminum stress increases  $K^+$  efflux and activities of ATP<sup>-</sup> and PPi-dependent H<sup>+</sup> pumps of tonoplast-enriched membrane vesicles from barley roots. Plant Cell Physiology, v.33, p.1035-1039, 1992.

KIDD, P.S.; LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; GUNSE, B.; BARCELO, J. The role of root exudates in aluminum resistance and silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany, Oxford, v.52, n.359, p.1339-1352, 2001.

KINRAIDE, T.B.; ARNOLD, R.C.; BALIGAR, V.C. A rapid assay for aluminium phytotoxicity at submicromolar concentrations. Physiologia Plantarum, v. 65, p. 245-250, 1985. KISS, T. Interaction of aluminum with biomolecules – any relevance to Alzheimer's disease? Arch Geront Geriat, v.21 (1), p.99-112, 1995.

KOCHIAN, L. V.; JONES, D. L. Aluminum toxicity and resistance in plants. In: YOKEL, R.; GOLUB, M. S. Research Issues in Aluminum Toxicity. Bristol: Taylor and Francis Publishers, p.69-90, 1997.

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, Palo Alto, v.55, p.459-93, 2004.

KOCHIAN, L.V.; SHAFF, J.E.; KUHTREIBER, W.M.; JAFFE, L.F.; LUCAS, W.J. Use of an extracellular, ion-selective vibrating microelectrode system for the quantification of  $K^+$ ,  $H^+$  and  $Ca^{2+}$  fluxes in Mayze roots and Mayze suspension of  $K^+$ ,  $H^+$  and  $C^{2+}$  fluxes in maize roots and maize suspension cells. Planta, v. 188, p. 601-610, 1992.

KORN, M.; JORGE, R.A.; ARRUDA, P. Aluminum induced organic acid exudation by roots of an aluminum tolerant tropical maize. Phytochemistry, Oxford, v.45, n.4, p.675-681, 1997.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; SHARP, R.E.; CUMBIE, B.G. Prevention of aluminum toxicity with supplemental boron. I. maintenance of root elongation and cellular structure. Plant Cell Environment, Oxford, v. 19, n. 10, p. 1132-1142, 1996.

LI, X.F.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat. Plant Physiology, Rockville, v.123, n.4, p.1537-1544, 2000.

LI, Y.Y.; YANG, J.L.; ZHANG, Y.J.; ZHENG, S.J. Disorganized distribution of homogalacturonan epitopes in cell walls as one possible mechanism for aluminium-induced root growth inhibition in maize. Annals of Botany, v.104, p.235-241, 2009.

LIMA, A.C.; GARCIA, N.H.P.; LIMA, J.R. Obtenção e caracterização dos principais produtos do caju. Boletim CEPPA, v. 22, n. 1, p. 133-144, 2004.

LIN, Y.H. Effects of aluminum on root growth and absorption of nutrients by two pineapple cultivars [*Ananas comosus* (L.) Merr.]. African Journal of Biotechnology, v.9 (26), p.4034-4041, 2010.

LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.H.; BARCELÓ, J. Monitoring of aluminum-induced inhibition of root elongation in four maize cultivars differing in tolerance to aluminum and proton toxicity. Physiologia Plantarum, v.93, p.265–271, 1995.

LÓPEZ-BUCIO, L; NETO JACOBO, M.F.; RAMIREZ-RODRIGUES, V.; HERRARA-ESTELLA, L. Organic acids metabolismo in plants: From adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. Plant Science, v.10, p.1-13, 2000.

MA, J.F.; SHEN, R.F.; NAGAO, S.; TANIMOTO, E. Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. Plant Cell Physiology, v.45, p.583–589, 2004.

MACEDO, F.L.; PEDRA, W.N.; SILVA, S.A.; BARRETO, M.C.V.; SIVA-MANN, S. Effect of aluminum in plants of *Jatropha curcas* L. grown in nutritive solution. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.32, n.1, p. 157-164, 2011.

MAGALHAES, J.V.; LIU, J.; GUIMARAES, C.T. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. Nature and Genetics, v.39, p.1156-1161, 2007.

MAGNAVACA, R,; BAHIA FILHO, A.F.C. Seleção de milho para tolerância ao alumínio. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 30p, 1991.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas; princípios e aplicações. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, 1997. 319p.

MARIANO, E.D.; JORGE, R.A.; KELTJENS, W.G.; MENOSSI, M. Metabolism and root exudation of organic acid anions under aluminium stress, Brazilian Journal Plant Physiology, Campinas, v. 17, n. 1, p. 157-172, 2005.

MARIANO, E.D.; KELTJENS, W.G. Long-term effects of aluminum exposure on nutrient uptake by maize genotypes differing in aluminum resistance. Journal of Plant Nutrition, v.28, n.2, p-232-333, 2005.

MARIENFIELD, S.; LEHMANN, H.; STELZER, R. Ultrastructural investigations and EDXanalyses of Al-treated oat (*Avena sativa*) roots. Plant Soil, v.171, p.167-173, 1995.

MARIN, A.; SANTOS, D.M.M. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidropônica. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1267-1275, 2008.

MARON, GUIMARAES, C.T.; KIRST, M.; ALBERT, P.S.; BIRCHLER, J.A.; BRADBURY, P.J.; BUCKLER, E.S.; COLUCCIO, A.E.; DANILOVA, T.V.; KUDRNA, D.; MAGALHAES, J.V.; PINEROS, M.A.; SCHATZ, M.C.; WING, R.A.; KOCHIAN, L.V. Aluminum tolerance in maize is associated with higher MATE1 gene copy number. Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America, p.1-6, 2013.

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. In: R.J. Wright, V.C. Baligar, and R.P. Moorman (eds), Plant-soil interactions at low pH. Proceedings of the Second International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Beckley, West Virginia, USA. Kluwer Academic Publisher, p.683–702, 1991.

MATSUMOTO, H. Biochemical mechanism of the toxicity of aluminum and the sequestration of aluminum in plant cells. In Plant-Soil Interactions at Low pH (Wright, R.J., Baligar, V.C., Murrmann, R.P., eds), Kluwer Academic Publishers, p.825-838, 1991.

MATSUMOTO, H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. International Review Cytology, San Diego, v.200, p.1-46, 2000.

MATSUMOTO, H.; SENOO, Y.; KASAI, M.; MAESHIMA, M. Response of the plant root to aluminum stress: Analysis of the inhibition of the root elongation and changes in membrane function. Journal of Plant Research, v.109, p.99-105, 1996.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; RESENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Flora Vascular do Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Ed.). Cerrado: ambiente e flora. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.89-168, 1998. MOSSOR-PIETRASZEWSKA, T. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. Acta Biochemical Polonica, v.48, p.673-686, 2001.

MOTODA, H.; KANO, Y.; HIRAGAMI, F.; KAYAMURA, K.; MATSUMOTO, H. Morphological changes in the apex of pea roots during and after recovery from aluminium treatment. Plant and Soil, v. 333, n. 1-2, p. 49-58, 2010.

NAGY, N.E.; DALEN, L.S.; JONES, D.L.; SWENSEN, B.; FOSSDAL, C.G.; ELDHUSET, T.D. Cytological and enzymatic responses to aluminium stress in root tips of Norway spruce seedlings. New Phytologist, v. 163, p. 595-607, 2004.

NAIDOO, G.; STEWART, J. McD.; LEWIS, R.J. Accumulation sites of Al in snap bean and cotton roots. Agronomy Journal, Madison, v.70, n.3, p.489-492, 1978.

NASCIMENTO, A. S. G. Leguminosas arbóreas de Florestas Pluviais Tropicais: Comportamento ecofisiológico em relação ao nitrogênio mineral e alumínio. 1998. 120 p.Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais). Universidade Federal Rural do Rio Janeiro. Seropédica, RJ, 1998.

NAVES, R.V. Espécies frutíferas nativas dos Cerrados de Goiás: caracterização e influências do clima e dos solos. 1999. 206 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) -Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

NICHOL, E.; OLIVEIRA, L.A.; GLASS, A.D.M.; SIDDIQI, M.Y. The effects of aluminum on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate, and phosphate in an aluminum-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Physiology, Rockville, v. 101, n. 4, p. 1263-1266, 1993.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasm, v. 59, p.368-373, 1964.

OFEI-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. Soil Science Plant Nutrition, Tokyo, v.47, n.2, p.359-375, 2001.

OLIVARES, E.; PENA, E.; MARCANO, E.; MOSTACERO, J.; AGUIAR, G.; BENITEZ, M.; RENGIFO, E. Aluminum acculation and its relationship with mineral plant nutrients in 12 pteridophytes from Venezuela. Environmental and Experimental Botany, v.65, n.1, p.132-141, 2009.

OLIVEIRA, M.S. Tolerância de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) à toxidez por alumínio em solução. 2012. 206 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) – Centro de Ciências Agrária, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

OLIVEIRA, V.H. de. Cajucultura. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 30, n. 1, 2008.

ONTHONG, J. & OSAKI, M. Adaptations of tropical plants to acid soils. Tropics, v.15 (4), p.337-347, 2006.

PAIVA, J.R.; CRISOSTOMO, J.R.; BARROS, L.M. Recursos Genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 43p. 2003.

PAVAN, M.A.; BINGHAM, F.T.; PRATT, P.F. Redistribution of exchangeable calcium, magnesium and aluminium following lime or gypsum application to a Brazilian oxisol. Soil Science Society of America Journal, v.48, p.33-38, 1982.

PEIXOTO, P.H.P.; PIMENTA, D.S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio. Bragantia, Campinas, v. 66, n.1, p.17-25, 2007.

PEJCHAR, P.; PLESKOT, R.; SCHWARZEROVÁ, K.; MARTINEC, J.; VALENTOVÁ, O.; NOVOTNÁ, Z. Aluminum ions inhibit phospholipase D in a microtubule-dependent manner. Cell Biology International. v.32, p.554-556, 2008.

PELLET, D.M.; GRUNES, E.L.; KOCHIAN, L.V. Organic acid exudation as an aluminumtolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). Planta, New York, v.196, n.4, p.788-795, 1995. PEREIRA, J.M.; CAMBRAIA, J.; FONSECA JÚNIOR, É.M.; RIBEIRO, C. Efeito do alumínio sobre a absorção, o acúmulo e o fracionamento do fósforo em sorgo. Bragantia, v. 67, n.4, p. 961-967, 2008.

PIÑEROS, M.A.; MAGALHAES, J.V.; ALVES, V.M.C.; KOCHIAN, L.V. The physiology and biophysics of an aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. Plant Physiology, Rockville, v.129, n.3, p.1194-1206, 2002.

POLLE, E.; KONZAC, C.F.; KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminium tolerance levels in wheat by hematoxylim staining of seedling roots. Crop Science, v. 18, p. 823-827, 1978.

PORTALUPPI, R.; BRAMMER, S.P.; MAGALHAES, J.V.; COSTA, C.T.; CAIEIÃO, E.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; SILVA JUNIOR, J.P. Tolerância de genótipos de cereais de inverno ao alumínio em cultivo hidropônico e em campo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.45, p.178-185, 2010.

QIN, R.; JIANG, W.; LIU, D. Aluminum can induce alterations in the cellular localization and expression of three major nucleolar proteins in root tip cells of *Allium cepa* var. agrogarum L. Chemosphere, v.90(2), p.827-834, 2013.

RAMOS, A.D.; OLIVEIRA, F.N.S.; LIMA, A.A.C. Solos cultivados com cajueiro no Piauí. Fortaleza: Embrapa-CNPCa, 1994. 24p. (Embrapa-CNPCa. Boletim de Pesquisa, 11).

RENGEL, Z. Uptake of aluminum by plant cells. New Phytologyst, v.134, p.389–406, 1996.

RENGEL, Z.; ELLIOTT, D.C. Mechanism of Aluminum Inhibition of Net Ca Uptake by Amaranthus Protoplasts. Plant Physiology, v.98 (2), p.632-638, 1992.

RENGEL, Z.; ZHANG, W.H. Role of dynamics of intracellular calcium in aluminum-toxicity syndrome. New Phytologyst, v.159, p.295–314, 2003.

RIBEIRO, C., CAMBRAIA, J., PEIXOTO, P.H.P., FONSECA JUNIOR, E. M. Antioxidant system response induced by aluminum in two rice cultivars. Brazil Journal of Plant Physiology, v.24, p. 107-116, 2012.

RIBEIRO, M.A.Q.; ALMEIDA, A.F.; MIELKE, M.S.; GOMES, F.P.; PIRES, M.V.; BALIGAR, V.C. Aluminum effects on growth, photosynthesis, and mineral nutrition of cacao genotypes. Journal of Plant Nutrition, v.36, p.1161-1179, 2013.

ROSSIELLO, R.O.P.; JACOB NETO, 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.

RUGGIERO, P.G.C.; PIVELLO, V.R.; SPAROVEK, G.; TERAMOTO,E.; PIRES NETO, A.G. Relação entre solo, vegetação e topografia em área de cerrado (Parque Estadual de Vassununga, SP): como se expressa em mapeamentos? Acta Botanica Brasilis, v.20, p.383-394, 2006.

RYAN, P.R.; DITOMASO, J.M.; KOCHIAN, L.V. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensivity and the role of the root cap. Journal Experimental Botany, London, v. 44, n. 259, p. 437-446, 1993.

RYAN, P.R.; RAMAN, H.; GUPTA, S.; HORST, W.J.; DELHAIZE, E. A second mechanism for aluminum resistance in wheat relies on the constitutive efflux of citrate from roots. Plant Physiology, v. 149, p.340-351, 2009.

SAKIHAMA, Y.; YAMASAKI, H. Lipid peroxidation induced by phenolics in conjunction with aluminum ions. Biologia Plantarum, Praha, v. 45, n. 2, p.249-254, 2002.

SANCHEZ-CHACÓN, C.D.; FEDERIZZI, L.C.; MILACH, S.C.K.; PACHECO, M.T. Variabilidade genética e herança da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 9, p. 1797-1808, 2002.

SASAKI, M.; YAMAMOTO, Y.; MATSUMOTO, H. Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots. Physiologya Plantarum, Copenhagen, v. 96, n. 2, p. 193-198, 1996.

SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; EZAKI, B.; KATSUHARA, M.; AHN, S.J.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E.; MATSUMOTO, H. A wheat gene encoding an aluminum-ativated malate transporter. Plant Journal, Oxford, v.37, p.645-653, 2004.

SCHEFFER-BASSO. S.M.; AGNOL, M.A.; CAETANO, J.H.S.; JACQUES, A.V.A. Growth of *Adesmia spp*. Seedlings submitted to aluminum doses in nutritive solution. Ciência Rural, Santa Maria, v.30, n.2, p. 217-222, 2000.

SHAMSI, I.H.; WEI, K.; JILANI, G.; ZHANG, GUO-PING. Interactions of cadmium and aluminum toxicity in their effect on growth and physiological parameters in soybean. Journal of Zhejiang University Science B, v.8 (3), p.181-188, 2007.

SILVA, A.H.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; CAMARGO, C.E.O. Genetic variability and inheritance to aluminum tolerance in nutriente solution in triticale. Bragantia, Campinas, v.73, n.1, p.8-13, 2014.

SILVA, D.B. da; SILVA, A.S. da; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. de. Frutas do Cerrado. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.178, 2001.

SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; MOXLEY, D.F.; CARTER, T.E.; ALLEN, N.S.; RUFTY, T.W. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy. Plant Physiology, Rockville, v.123, n.2, p.543-552, 2000.

SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; MOXLEY, D.F.; CARTER, T.E.; ALLEN, N.S.; RUFTY, T.W. Aluminum Accumulation at Nuclei of Cells in the Root Tip. Fluorescence Detection Using

Lumogallion and Confocal Laser Scanning Microscopy. Plant Physiology, v. 123, p.543-552, 2000.

SILVA, I.R; SMYTH, T.J.; RAPER, C.D.; CARTER, T.E.; RUFTY, T.W. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. Physiologia Plantarum, Oxford, v.112, n.2, p.200-210, 2001.

SILVA, M.R.; LACERDA, B.C.L.; SANTOS, G.G.; MARTINS, D.M. de O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. Ciência Rural, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, 2008.

SILVA, R.S.M.; CHAVES, L.J.; NAVES, R.V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 330-334, 2001.

SILVA, S. Aluminium toxicity targets in plants. Journal of Botany, v.2012, 2012, 8p.

SILVA, S.; PINTO-CARNIDE, O.; MARTINS-LOPES, P.; MATOS, M.; GUEDES-PINTO, H.; SANTOS, C. Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in an Al sensitive vs. Tolerant wheat. Environmental and Experimental Botany, v.68, n.1, p.91-98, 2010.

SIMONOVICOVA, M.; HUTTOVA, J.; MISTRIK, I.; SIROKA, B.; TAMAS, L. Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell death due to peroxidase- mediated hydrogen peroxide production. Protoplasma, v. 224, p. 91-98, 2004.

SIVAGURU, M.; BALUSKA, F.; VULKMANN, D.; FELLE, H.H.; HORST, W.J. Impacts of aluminum on the cytoskeleton of maize root apex: short-term effects on the distal part of the transition zone. Plant Physiology, Rockville, v.119, n.3, p.1073-1082, 1999.

SIVAGURU, M.; FUJIWARA, T.; SAMAJ, J.; BALUSKA, F.; YANG, Z.; OSAWA, H.; MAEDA, T.; MORI, T.; VOLKMANN, D.; MATSUMOTO, H. Aluminum-Induced 1, 3- $\beta$ -D-Glucan Inhibits Cell-to-Cell Trafficking of Molecules through Plasmodesmata. A New Mechanism of Aluminum Toxicity in Plants. Plant Physiology, v.124, p.991-1006, 2000.

SOUZA, W. Microscopia Óptica: fundamentos e aplicações às Ciências Biomédicas. 1ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2010. 220 p.

STEFANELLO, R.; GARCIA, D.C.; MENEZES, N.L. de; MUNIZ, M.F.B.; WRASSE, C.F. Efeito da luz, temperatura e estresse hídrico no potencial fisiológico de sementes de funcho. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 28, n. 2, p. 135-141, 2006.

SUJKOWSKA-RYBKOWSKA, M. Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (*Pisum sativum* L.) root nodules after short-term aluminum treatment. Acta Physiologia Plantarum. v.34 (4), p.1387-1400, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 500 p.

TECCHIO, M.A.; PAIOLI-PIRES, E.J.; GRASSI FILHO, H.; BRIZOLA, R.M.O.; TERRA, M.M.; CORRÊA, J.C. Acúmulo de macronutrientes em porta-enxertos de videira cultivadas em solução nutritiva com adição de alumínio. Acta Scientiarum. Agronomy, v.27, n.1, p.47-54, 2005.

TICE, K.R.; PARKER, D.R.; DEMASON, D.A. Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in root tips of aluminum-intoxicated wheat. Plant Physiology, v.100, p.109–318, 1992.

TOLRA, R.P.; POSCHENRIEDER, C.; LUPPI, B.; BARCELO, J. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa*. Environmental and Experimental Botany, v. 54, p. 231–238, 2005.

VASCONCELOS, S.S. Métodos de avaliação da tolerância à toxidade de alumínio em cultivares da arroz (*Oryza sativa* L.). Seropédica: UFRRJ, 1997, 137p. Tese de Mestrado.

VASCONCELOS, S.S.; ROSSIELO, R.O.P.; JACOB-NETO, J. Parâmetros morfológicos para estabelecer tolerância diferencial à toxicidade de alumínio em cultivares de arroz. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, n.3, p. 357-363, 2002.

VITORELLO, V.A.; HAUG, A. Short-term aluminum uptake by tobacco cells: growth dependence and evidence for internalization in a discrete peripheral region. Physiologia Plantarum, v.97, p.536–544, 1996.

WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; OBATA, H.; TAWARAYA, K.; KATOHDA, S. Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site for aluminum toxicity in roots. Plant and Soil, Dordrecht, v. 171, n. 1, p. 105-112, 1995.

WAGATSUMA, T.; KAWASHIMA, T.; TAWARYA, K. Comparative stainability of plant root cells with basic dye (methylene blue) in association with aluminium tolerance. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 19: 1207-1215, 1998.

WATANABE, T. & OSAKI, M. "Mechanisms of Adaptation to High Aluminum Condition in Native Plant Species Growing in Acid Soils: A Review," Communications in Soil Sciences and Plant Analysis, v. 33, n. 7-8, p.1247-1260, 2002.

XUE, Y.J.; TAO, L.; YANG, Z.M. Aluminum-induced cell wall peroxidase activity and lignin synthesis are differentially regulated by jasmonate and nitric oxide. Journal of agricultural and food chemistry, v.56 (20), p.76-84, 2008.

YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; DEVI, S.R.; RIKIISHI, S.; MATSUMOTO, H. Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells. Plant Physiology, v.128, p.63-72, 2002.

YAMASHITA, O.M.; GUIMARÃES, S.C. Germinação de sementes de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* em função da presença de alumínio no substrato. Ciência Rural, v.41(4), p.599, 2011.

YANG, J.L.; LI, Y.Y.; ZHANG, Y.J.; WU, Y.R.; WU, P.; ZHENG, S.J. Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. Plant Physiology, v.146, p.602–61, 2008.

YANG, Z. M.; SIVAGURU, M.; HORST, W. J.; MATSUMOTO, H. Aluminum tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*). Physiologia Plantarum, Oxford, v.110, n.1, p.72-77, 2000.

ZHANG, W-H.; RENGEL, Z. Aluminum induces an increase in cytoplasmic calcium intact wheat root apical cells. Australian Journal of Plant Physiology, v.26, p.401-409, 1999.

ZHAO, Z.; MA, J.F.; SATO, K.; TAKEDA, K. Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.). Planta, New York, v.217, n.5, p.794-800, 2003.

ZHEANG, S.J.; YANG, J.L.; HE, Y.F.; YU, X.H.; ZHANG, L.; YOU, J.F.; SHEN, R.F.; MATSUMOTO, H. Imobilization of Aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in Buckwheat. Plant Physiology, v.138, p.297-303, 2005.

ZHENG, S. J.; MA, J. F.; MATSUMOTO, H. Continuous secretion of organic acids in related to aluminum resistance during relatively long-term exposure to aluminum stress. Physiologia Plantarum, Oxford, v.103, n.2, p.209-214, 1998.