

EXSUDAÇÃO DE CITRATO E TOLERÂNCIA A ALUMÍNIO EM MILHO

ALVES, V.M.C.¹; MAGALHÃES, J.V.¹; SHAFF, J.²; GUIMARÃES, C.T.¹, KOCHIAN, L.V.²

¹Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, CEP 35.701-970, Sete Lagoas, MG, (31)37791057, E-mail: vera@cnpms.embrapa.br, ²US Plant, Soil and Nutrition Laboratory, USDA/ARS

Adaptação a solos ácidos, ácidos orgânicos, mecanismos de tolerância ao alumínio

Introdução

O primeiro sintoma de toxidez de Al (Al) é a inibição da elongação da raiz, o qual ocorre cerca de 1-2 h após a exposição a Al, sendo o ápice radicular o sítio primário de indução da inibição do crescimento causada por este elemento. Os mecanismos de tolerância ao Al propostos na literatura podem ser classificados em mecanismos de exclusão e mecanismos de tolerância interna. Os mecanismos de exclusão previnem o Al de atravessar a membrana plasmática e penetrar no simplasto. Os mecanismos de tolerância interna imobilizam, compartimentalizam ou detoxificam o Al que penetrou no simplasto. Os mecanismos de exclusão propostos na literatura incluem ligação do Al na parede das células, modificação do pH da rizosfera, exsudação pelas raízes de compostos que formam quelatos com o Al, dentre outros. Tem sido sugerido que ácidos orgânicos atuam em ambos, na exclusão, via quelação do Al no apoplasto e na rizosfera e na detoxificação do Al do simplasto, onde ácidos orgânicos podem quelar Al e reduzir e/ou prevenir o seu efeito tóxico a nível celular. O objetivo deste trabalho foi estudar a exsudação de ácido cítrico pela raiz como mecanismo de tolerância ao Al, em milho.

Material e Métodos

Foram utilizadas duas linhagens de milho provenientes do Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, Cateto Al 237, tolerante ao Al e L53, sensível e 13 linhagens recombinantes (quatro tolerantes - L115, L117, L104, L224; cinco intermediárias - L13, L214, L01, L97, L20 e quatro sensíveis - L33, L28, L149, L35) desenvolvidas a partir do cruzamento destes dois parentais. Em todos os experimentos utilizou-se a mesma metodologia para o crescimento das plântulas. As sementes de cada genótipo foram germinadas durante 3 dias e as plântulas transplantadas para bandejas contendo solução nutritiva pH 4,2, onde permaneceram por 24 horas, em câmara de crescimento. Os tratamentos com Al foram iniciados a partir de 24h de crescimento sendo que o período de tratamento e as atividades de Al na solução variaram de acordo com os objetivos de cada experimento. O crescimento da raiz seminal foi avaliado diariamente nas atividades 0 e 40µM de alumínio por meio de

medição com uma régua, imediatamente antes da aplicação dos tratamentos com Al e diariamente durante 6 dias. A relação entre exsudação de ácidos orgânicos e tolerância a Al em milho foi avaliada utilizando-se duas metodologias. No primeiro experimento avaliou-se a exsudação de ácidos orgânicos apenas no primeiro centímetro da raiz seminal. Foram avaliadas as linhagens Cateto Al 237 e L53 em cinco atividades de Al (0, 10, 20, 40 e 80 μ M) e em cinco tempos de exposição (6, 12, 24, 48 e 72 horas). O exsudato radicular proveniente do primeiro centímetro da raiz seminal foi coletado por um período de seis horas, sendo a solução de coleta analisada em aparelho de eletroforese capilar. No segundo experimento, a exsudação de ácidos orgânicos foi avaliada no sistema radicular total, utilizando-se as mesmas linhagens, e avaliando-se as atividades de 20 e 40 μ M de Al nos tempos de exposição de 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. A concentração de Al no ápice radicular foi avaliada nos primeiros 5 mm da raiz seminal das plântulas de milho após o término da coleta de exsudato radicular. A exsudação de ácidos orgânicos também foi avaliada nas 13 linhagens recombinantes, utilizando-se a mesma metodologia de coleta de exsudação de ácidos orgânicos por ápices radiculares do experimento com os parentais.

Resultados e Discussão

Confirmou-se a grande sensibilidade da linhagem L53, a qual apresentou redução de aproximadamente 35% do crescimento da raiz seminal após um dia de exposição a 40 μ M de Al e de 85% após 6 dias de tratamento. Por outro lado, a linhagem Cateto Al 237 foi muito tolerante, não apresentando redução do crescimento da raiz seminal mesmo após seis dias de exposição ao Al. Os principais ácidos orgânicos exsudados pelas linhagens avaliadas foram o citrato e o malato em ambas as metodologias de coleta. Quando a coleta foi realizada apenas no ápice radicular, verificou-se que a linhagem Cateto Al237, tolerante ao Al apresentou exsudação de citrato de 2 a 3 vezes superior a linhagem sensível L53 em todas as atividades de Al e tempos de exposição estudados, com exceção da atividade zero. Nos tempos de exposição de 6 e 12 horas, a atividade de 20 μ M de Al apresentou a maior taxa de exsudação de citrato na linhagem Cateto. Após 24 e 48 horas de exposição, não houve diferença significativa entre as atividades 20 e 40 μ M de Al quanto à exsudação de citrato pela Cateto, sendo que após 72 h, a exsudação foi a mesma para as atividades de 10 a 80 μ M. Nesse período de exposição houve redução na taxa de exsudação nas atividades mais baixas de Al. Resultados semelhantes foram obtidos quando a exsudação de ácidos orgânicos foi avaliada em todo o sistema radicular (Figura 1). A taxa de exsudação de citrato da linhagem Cateto foi

muito superior a da linhagem L53, quando o Al foi adicionado nas atividades de 20 e 40 μ M, sendo que a exsudação a 20 μ M foi superior a de 40 μ M após 12 horas de exposição ao Al. A taxa de exsudação de citrato quando se avaliou a raiz total foi bastante superior à taxa de exsudação no primeiro centímetro radicular, indicando haver em milho exsudação em outras partes da raiz. Em ambas as metodologias verificou-se que a exsudação de citrato em resposta ao Al é quase imediata, sendo observada mesmo em períodos muito curtos de exposição, como 3 h. O aumento da exsudação de citrato na linhagem tolerante em resposta aos tratamentos com Al indica que este pode ser um importante mecanismo de tolerância a Al em milho, como verificado anteriormente por Pellet et al. (1995), os quais observaram uma taxa de exsudação de citrato em linhagens tolerantes próximas às encontradas nestes experimentos (250 pmoles/apice.hora). Não foi observada nenhuma correlação entre a exsudação de malato e a tolerância a alumínio em milho, nas linhagens estudadas.

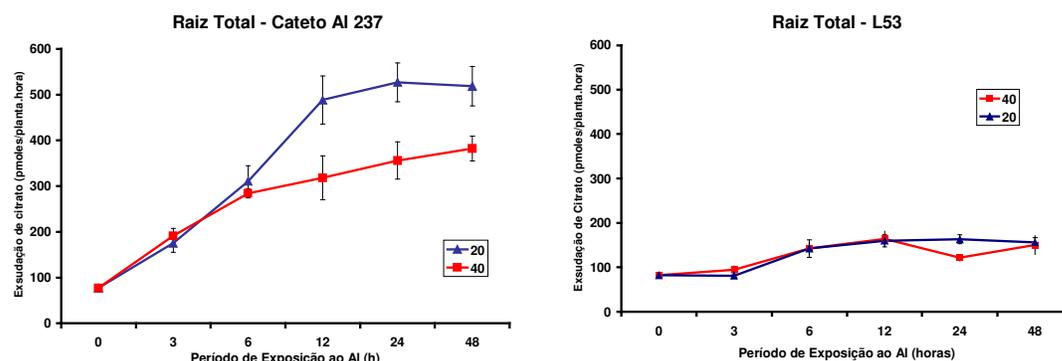


Figura 1. Exsudação de citrato pelo sistema radicular total de duas linhagens de milho, Cateto Al 237 – tolerante ao alumínio e L53 – sensível, após zero, três, seis, doze, vinte e quatro e quarenta e oito horas de exposição a 20 e 40 μ M de atividade de Al.

Houve aumento da concentração de Al no ápice radicular da linhagem L 53, sensível ao Al, com o aumento das atividades e com o aumento dos períodos de exposição ao Al. Ao contrário, na linhagem tolerante, Cateto Al 237, houve aumento na concentração de alumínio no ápice radicular apenas até 12 horas de exposição ao Al, sendo que não houve diferença entre as atividades de 40 e 80 μ M de Al. Isso indica que o mecanismo de tolerância ao Al na linhagem Cateto é um mecanismo de exclusão, o que está de acordo com a ação de um mecanismo de exsudação de citrato, como verificado anteriormente. Nas linhagens recombinantes o tratamento com Al provocou aumento na taxa de exsudação de citrato em todas as linhagens intermediárias e tolerantes ao Al, sendo que estas apresentaram taxa de exsudação de citrato induzida pelo Al muito superior às linhagens sensíveis. Com exceção das linhagens L224 (tolerante) e L01 (intermediária), as linhagens tolerantes apresentaram taxa de

exsudação de citrato induzida por Al superior à das linhagens intermediárias. A correlação entre a porcentagem de crescimento relativo de raiz seminal e a exsudação de citrato em 13 linhagens recombinantes de milho expostas a 39µM de atividade de Al durante 24 horas foi elevada (0,65), indicando ser a exsudação de citrato um dos principais mecanismos de tolerância ao alumínio nestes genótipos (Figura 2).

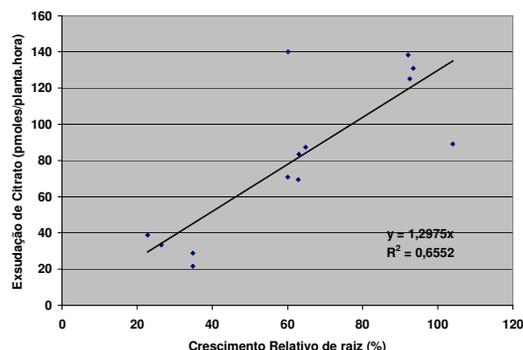


Figura 2. Correlação entre a porcentagem de crescimento relativo de raiz seminal e a exsudação de citrato em 13 linhagens recombinantes de milho expostas a 39µM de atividade de Al durante 24 horas.

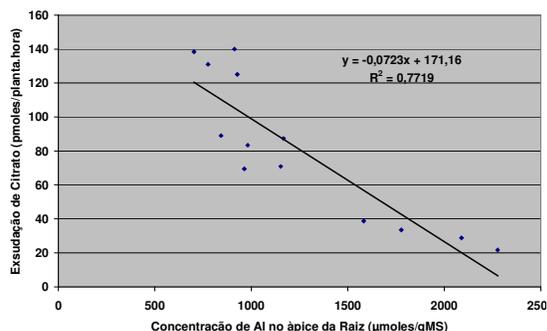


Figura 3. Correlação entre a concentração de alumínio nos primeiros 50mm da raiz seminal e a exsudação de citrato pelo ápice radicular em 13 linhagens recombinantes de milho expostas a 39µM de atividade de Al durante 24 horas.

Esta hipótese é confirmada pela alta e negativa correlação encontrada entre a concentração de alumínio nos primeiros 50mm da raiz seminal e a exsudação de citrato pelo ápice radicular nas 13 linhagens recombinantes (Figura 3). Não foi verificada nenhuma correlação entre a exsudação de malato e de fosfato e a tolerância a Al em milho.

Conclusões

- Existe uma nítida correlação entre exclusão do Al do ápice radicular e tolerância a Al em milho.
- A exclusão do Al do ápice radicular via exsudação de citrato é um dos mecanismos de tolerância a Al em milho.
- Não há nenhuma evidência de que a exsudação de malato e de fosfato se constituam em mecanismo de tolerância a Al em milho