

# Efeito do alumínio no crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* cultivadas *in vitro*

## Aluminum effect on *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots growth *in vitro*

Lúcia Helena Menegon Basso  
Antonio Natal Gonçalves  
Liciania Vaz de Arruda Silveira  
Giuseppina Pace Pereira Lima

---

**RESUMO:** O trabalho foi realizado em cultura *in vitro*, tendo como objetivos avaliar o efeito do alumínio no crescimento de brotos de eucalipto, através dos teores de nutrientes e de proteínas solúveis totais, no material vegetal. O experimento foi delineado inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições por tratamento. Cada tratamento correspondeu a 0; 6,75; 13,00 e 27,00 mg.L<sup>-1</sup> de Al. O material vegetal utilizado foi um clone do *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, constituindo-se de brotações com parte aérea pouco desenvolvida e ausência de sistema radicular. As coletas foram realizadas aos 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 dias de cultivo. Os resultados mostram a indisponibilização de nutrientes como cálcio, fósforo e potássio, causada pela adição de doses crescentes de alumínio ao meio de cultura. Houve comprometimento do metabolismo celular, ocasionando alterações morfológicas na parte aérea (escurecimento, formação de calos e brotações pouco friáveis), acúmulo de massa seca e redução de proteínas solúveis totais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cultivo *in vitro*, Estresse, Eucalipto, Alumínio

**ABSTRACT:** The aim of this work was to evaluate the effects of aluminum on the growth of *Eucalyptus* shoots cultivated *in vitro* through nutrient and total soluble protein content. The trial had a totally randomized design with four treatments and four replicates. The treatments were: 0.0; 0.25; 0.5 and 1.0 mM of AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Shoots without roots of a *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clone were used for the *in vitro* culture. Evaluations were made on the 4th, 8th, 12th, 16th, 20th, 24th and 28th day of culture. The Al addition to the culture media reduced mainly Ca, P and K availability and absorptions by the shoots. The cellular metabolism was affected, conducted to morphological alterations in shoots (browning, mass calluses formation and shoots not friable), dry matter increased and a decreased in total protein soluble.

**KEYWORD:** *In vitro* culture, Stress, *Eucalyptus*, Aluminum

## INTRODUÇÃO

Em geral, a atividade florestal é destinada a solos arenosos e de baixa fertilidade, possuindo, muitos deles, níveis de elementos considerados tóxicos para as plantas. Baixo pH combinado com altas concentrações de alumínio em solos pode ser um dos principais fatores de declínio de florestas. Acidificação pode reduzir o crescimento de raízes e a absorção de nutrientes essenciais do solo (Persson e Madji, 1995). A insuficiência na quantidade de um determinado elemento químico essencial para a vida da planta, ou combinações que o tornem pouco disponível, provocará distúrbios no metabolismo, que podem ser evidenciados externamente, através da diminuição do crescimento, clorose foliar ou outras anomalias (Epstein, 1975). Geralmente, é difícil determinar se os efeitos adversos da acidificação do solo no crescimento e desenvolvimento de plantas são atribuídos à alta concentração de alumínio ou de  $H^+$ ; porém, hipóteses sugerem que os efeitos da acidificação do solo em essências florestais são relacionados tanto ao baixo pH, como aos metais fitotóxicos dissolvidos, como o alumínio.

O alumínio é o terceiro metal mais abundante da crosta terrestre, após o oxigênio e o silício (Ma et al., 2001) e é encontrado sob diferentes formas, como aluminossilicatos insolúveis ou óxidos (Foy et al., 1978; Delhaize et al., 1995; Larsen et al., 1996). Concentrações micromolares de  $Al^{3+}$  podem inibir o crescimento de raízes em poucos minutos ou horas em diversas espécies vegetais. O efeito na nutrição resulta em diminuição do crescimento e conseqüentemente, baixa produtividade (Ma et al., 2001).

A toxidez por alumínio pode causar inibição da divisão celular, lesões na membrana, alterar a síntese de DNA e mitose, além de alterar a rigidez da parede celular (Foy et al., 1978;

Vázquez et al., 1999). O alumínio interfere na fixação do P em formas menos disponíveis no solo ou na raiz da planta, diminui a respiração radicular e altera a absorção, transporte e uso de elementos (Ca, Mg, P, K) e água pelas plantas (Roy et al., 1988; Kochian, 1995). Dentre os vários mecanismos de resposta ao estresse nutricional, estão as alterações no metabolismo celular. O papel do alumínio e sua interação com elementos nutrientes foram, por muitos anos, uma parte dos estudos da nutrição das plantas, e atualmente tem se tornado uma importante área da pesquisa agrônômica e florestal.

Poucos trabalhos relatam o efeito do Al em plantas cultivadas in vitro e sua ação nas brotações, pois a maioria descreve os efeitos do metal nas raízes. Desta forma, o presente trabalho visa avaliar os efeitos do alumínio e sua interação com outros nutrientes em brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, obtidas com o emprego da tecnologia da cultura de tecidos, através dos teores de nutrientes e de proteínas solúveis totais, no material vegetal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foi um clone do *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* cultivado in vitro obtido a partir de ramos coletados com aproximadamente 15 cm de comprimento, onde a partir de segmentos nodais, contendo gemas axilares foram inoculados em meio de cultura (Gonçalves, 1980), obtendo-se dessa forma as brotações, as quais foram multiplicadas durante 30 dias, para obtenção de quantidade suficiente de material vegetal e com aproximadamente 1,0 cm de tamanho (Machado, 1993). As brotações utilizadas constituíram-se de parte aérea pouco desenvolvida e ausência de sistema radicular. A cultura permaneceu em sala de crescimento com temperatura de  $26 \pm 2^{\circ}C$ , fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de

1000 lux, fornecida por luz branca fria localizada 30 cm acima do nível de cada prateleira.

As brotações foram subcultivadas em meio Gonçalves (1980) acrescido de IAA (ácido indol acético) a  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  e 6 BAP (benzilaminopurina) a  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ , com pH ajustado a 5,8 antes da inclusão de alumínio.

Diferentes doses de alumínio foram adicionadas ao meio de cultura, sob a forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ , nas seguintes concentrações, representando os tratamentos: Controle (omisso; pH 5,2),  $T_1$  (6,75 mg de alumínio; pH 3,5),  $T_2$  (13,5 mg de alumínio; pH 3,3) e  $T_3$  (27,0 mg de alumínio; pH 3,1). O cálculo das concentrações do metal utilizado, foi baseado apenas no teor de alumínio presente no sal ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ ).

Houve necessidade de se trabalhar com meio de cultura líquido, pois ao se adicionar o  $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ , o valor de pH diminuía, não permitindo a geleificação; assim, utilizou-se manta acrílica como sustentação das brotações. Em cada recipiente foram colocados 50 ml do meio de cultura e 4 brotações.

O experimento foi delineado inteiramente casualizado, 4 tratamentos e 4 repetições. As coletas foram realizadas aos 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 dias de cultivo, para avaliação dos parâmetros matéria seca (MS), teor dos nutrientes no material vegetal e teor de proteínas solúveis totais.

### Ensaio realizados

#### Avaliação do crescimento da cultura em condições de estresse por alumínio

As coletas foram realizadas a cada 4 dias, o material vegetal foi pesado para obtenção da matéria fresca e posteriormente seco em estufa de circulação forçada, para obtenção da matéria seca até peso constante e com isso obteve-se a curva de crescimento das brotações durante o período de cultivo em função das doses de alumínio adicionadas ao meio.

### Teor de nutrientes no material vegetal

As mesmas amostras utilizadas para a curva de crescimento foram submetidas à análise da concentração dos nutrientes no material vegetal. As amostras foram moídas e submetidas a digestões nítrico-perclórica e sulfúrica, onde foram determinadas as concentrações dos elementos nos extratos obtidos, segundo a metodologia descrita por Sarruge e Haag (1974). As determinações de nitrogênio foram realizadas através do método analítico do micro Kjeldahl. Para o fósforo, as determinações foram feitas por colorimetria pelo método vanadomolibdato de amônio enquanto que os teores de potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O boro foi determinado pelo método da azometina H (Malavolta et al., 1997).

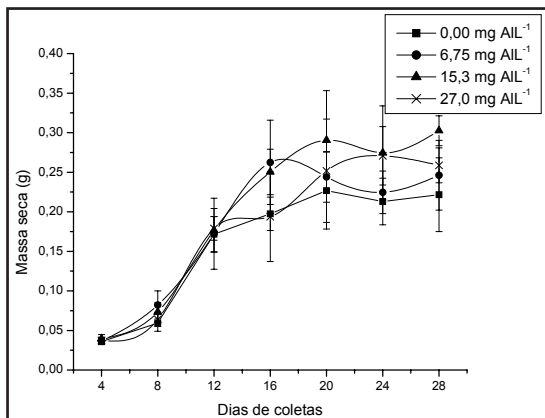
### Avaliação do teor de proteínas solúveis totais

Brotações de eucalipto foram maceradas em almofariz gelado, na proporção de 1 grama / 2 ml de solução extratora n. 1 de Alfenas et al. (1991). O macerado foi centrifugado a 10.000 rpm / 20 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . O sobrenadante foi utilizado para determinação de proteínas solúveis totais de acordo com o método de Bradford (1976), utilizando caseína como padrão e leitura a 595 nm em espectrofotômetro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Avaliação do crescimento

O resultado da curva de crescimento baseado na massa seca, das brotações submetidas aos tratamentos com diferentes doses de alumínio mostrou que houve aumento de massa para todos os tratamentos, durante o período de cultivo (Figura 1). Entretanto, esse aumento observado não necessariamente, indicaria um desenvolvimento das brotações, pois ocorreu formação de calos e as brotações tornaram-se mais rígidas (pouco friáveis).



**Figura 1**

Curva de crescimento das brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* submetidas aos diferentes tratamentos com alumínio durante o período de cultivo (Linhas verticais mostram Médias  $\pm$  SD, n=4)

(Growth curve of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots under different aluminum concentration effects during the period of culture (Vertical lines show  $\pm$  SD of the mean, n=4))

As brotações em geral, apresentaram gradiente de vigor inverso ao aumento da dose de alumínio ao meio de cultura, isto é, as brotações cultivadas na presença do metal mostraram alterações estruturais na parte aérea e acúmulo de matéria seca. A entrada de alumínio no tecido vegetal, provavelmente ocasionou danos ao funcionamento celular, levando à redução na organização dos tecidos, que resultou no aumento de matéria seca, como resposta ao estresse. As plantas submetidas a tratamentos com alumínio, principalmente nas maiores doses utilizadas apresentaram-se menos friáveis em relação ao controle, provavelmente devido ao enrijecimento da parede celular provocada pelo sal, como descrito em Foy et al., 1978.

Mudanças morfológicas em *Vaucheria longicaulis* submetidas a tratamentos com alumínio são descritas por Alessa e Oliveira (2001), onde afirmam que ocorre desorganização do citoplasma nas células sob efeito do metal. Neste trabalho, notou-se diminuição do crescimento em altura e formação de massa calosa,

enrijecida, com sinais visíveis de oxidação, o que promoveu um escurecimento do material vegetal. Escurecimento é geralmente notado quando ocorre oxidação de fenóis, o que pode ser causado por diminuição do pH (Hirano e Hijii, 1998). É bem documentado que o excesso de alumínio tem efeito marcante na morfologia de espécies florestais, principalmente nas raízes, podendo provocar a peroxidação dos lipídeos das membranas, alterando sua função, causando dessa forma danos irreversíveis, como o desarranjo da membrana e alteração no transporte de íons, modificando assim, a morfologia e o crescimento de plantas submetidas a tratamentos com alumínio (Yamamoto et al., 1997).

Kohno et al. (1995) relataram que a concentração de 2 mM de Al é crítica para o crescimento e desenvolvimento de *Cryptomeria japonica* e *Chaemaecyparis obtusa* e notaram que o peso seco total foi diminuído drasticamente em 5 mM Al.

Não só o alumínio pode causar tais efeitos, o pH ácido ou básico também é outro fator que causa danos às culturas agrícolas. O alumínio acrescido ao meio de cultura provoca a dissociação de prótons, diminuindo o pH do meio (Baester e Mesmer, 1976), e esse fato pode levar à diminuição do crescimento e alteração na absorção de íons, tanto que pode ser difícil separar danos causados por alumínio ou pH separadamente, quando os dois são causas de interferência ou de tratamentos.

*Cryptomeria japonica* e *Chaemaecyparis obtusa* cultivadas em pH baixo, entre 3,5 a 4,0, mostraram que o crescimento, baseado na massa seca, foi maior quando comparado com aquelas submetidas a pH entre 4,0 e 6,0 (Kohno et al., 1997). Por outro lado, Izuta et al. (1996) reportaram que tratamento com pH 3,0 não produziu efeitos adversos no crescimento de raízes. Arduini et al. (1998) notaram que *Pinus pinaster*

cultivados em pH 3,5 apresentaram aumento significativo na massa seca comparados com aqueles cultivados em pH mais básico. Resultados semelhantes são descritos por Islam et al. (1980) em gengibre e outras culturas. Esse aumento de massa seca pode ser devido ao aumento da taxa de divisão celular (onde ocorre formação de células pequenas) e diminuição no alongamento, como descrito por Vangelisti et al. (1995). Neste trabalho foi observada formação de massa calosa entre as brotações, com o aumento do nível de Al e conseqüente diminuição de pH, o que pode ser devido, provavelmente, ao aumento da mitose e não do crescimento, contribuindo para o aumento de massa seca encontrada na Figura 1.

#### Teor dos nutrientes no material vegetal

Na Tabela 1 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson entre as doses de alumínio na solução e a concentração dos macronutrientes nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

**Tabela 1**

Coeficientes de correlação entre as concentrações de alumínio no meio de cultura e os teores dos nutrientes minerais nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, durante o período de cultivo.  
(Correlation coefficients among aluminum concentration in the culture media and the nutrient content in the *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots during the culture period)

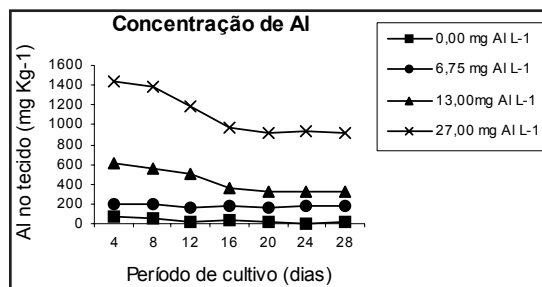
N	P	K	Ca	Mg
-0,09	-0,57	-0,56	-0,64	-0,48
n.s.	**	**	**	**

\*\* significativo a 1% de probabilidade; n.s. não significativo

O aumento das doses de alumínio no meio de cultura proporcionou aumento nas concentrações de alumínio no tecido vegetal, para as brotações cultivadas em meio contendo Al (Figura 2).

A Figura 3 mostra a concentração dos macronutrientes que apresentaram valores significativos pela correlação de Pearson presen-

tes no tecido vegetal durante o período de cultivo. As correlações mostraram que o aumento das doses de alumínio proporcionou menor concentração de Ca, P e K no tecido vegetal (Tabela 1).



**Figura 2**

Teor de alumínio nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* nos diferentes tratamentos durante o período de cultivo.

(Aluminum content in *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots in the different treatments during the culture period)

O alumínio interfere na absorção, transporte e uso de elementos (Ca, Mg, P e K) podendo comprometer ainda, a aquisição de água pelas plantas (Roy et al., 1988; Kochian, 1995). O pH do meio também causa alterações nos teores de nutrientes nas plantas, por exemplo, plantas crescendo em solos ácidos (pH < 5,5) podem mostrar deficiência de P, Ca e Mg ou toxidez de Al e Mn, enquanto que plantas crescendo em pH alcalinos, podem mostrar deficiência de Fe e Zn (Clark, 1996).

As concentrações de Ca foram maiores nas plantas cultivadas na ausência de alumínio em relação à adição deste elemento no meio. A presença de alumínio pode ter reduzido a concentração de Ca no tecido devido ambos os íons competirem pelo mesmo sítio do carregador ativo no processo de absorção, ocorrendo uma inibição competitiva do alumínio com o Ca (Lindberg, 1990; Malavolta et al., 1997).

O cálcio desempenha muitos efeitos no crescimento e desenvolvimento da planta: altera a resposta geotrópica, a fotossíntese e outros

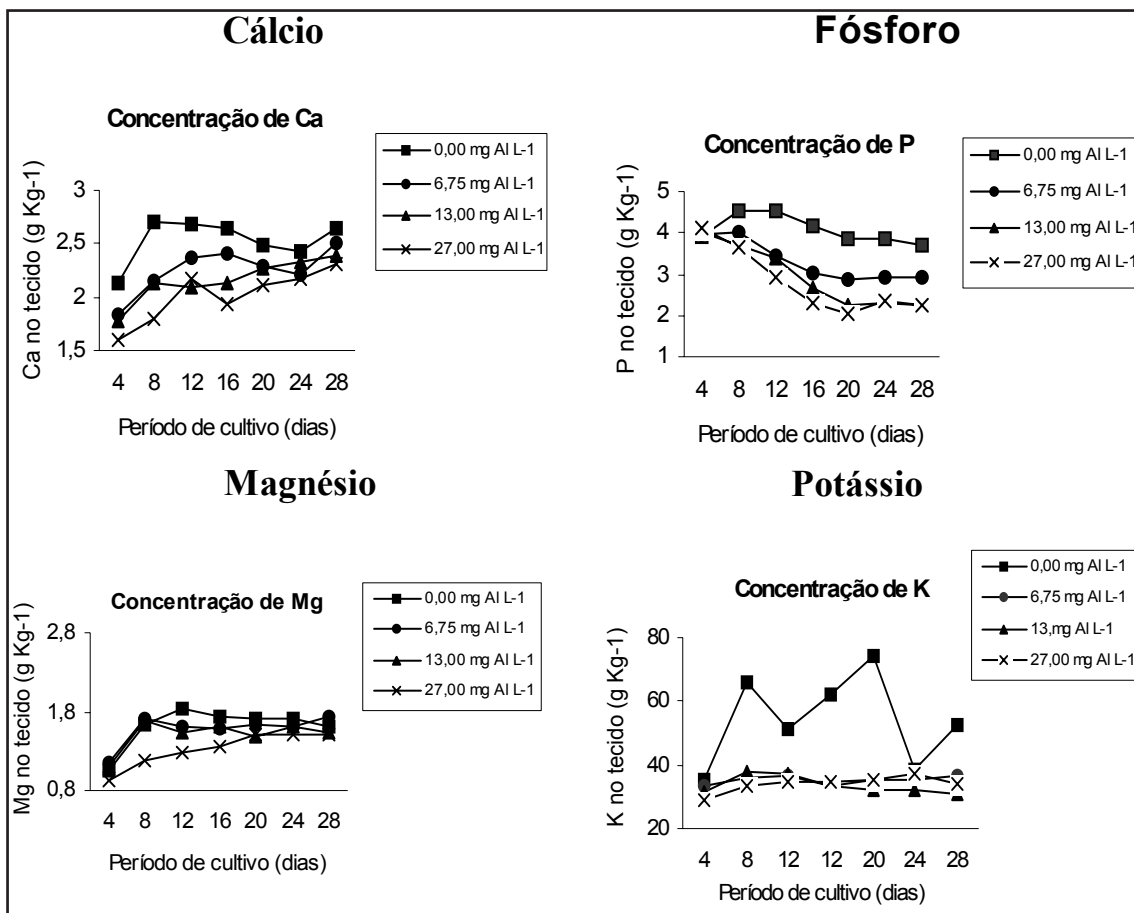


Figura 3

Teor dos macronutrientes nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* cultivadas em meio de cultura Gonçalves (1980) durante o período de cultivo.

(Macronutrient contents in the *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots cultivated in Gonçalves (1980) culture medium with different aluminum concentration during the growth period)

processos fisiológicos como a divisão celular, movimentos citoplasmáticos e o aumento do volume celular. O cálcio é essencial para manter a integridade estrutural das membranas e das paredes celulares (Foy et al., 1978; Roy et al., 1988; Taylor, 1988).

Hirano e Hiji (1998) trabalhando com o efeito de baixo pH e excesso de Al em *Cryptomeria japonica*, notaram que tanto Ca como Mg foram reduzidos. Diminuição de Ca e Mg também foram observadas por Kohno et al. (1995) e Izuta et al. (1996) quando usaram Al como tratamento.

A adição de alumínio na solução resultou numa menor concentração de P no tecido durante todo o período de cultivo (de 8 a 20 dias mais acentuado). Este efeito pode se dever a uma insolubilização do  $H_2PO_4^-$  pela presença de alumínio, formando fosfato de alumínio, menos disponível para as plantas.

Freqüentemente, os sintomas da fitotoxicidade do alumínio assemelham-se àqueles da deficiência de fósforo (Foy et al., 1978). Em algumas espécies vegetais a tolerância ao excesso de alumínio tem sido relacionada à habilidade em absorver e utilizar o fósforo.

O P é absorvido predominantemente na forma iônica de  $H_2PO_4^-$ . O fósforo da planta encontra-se em vários grupos: o DNA e o RNA, ácidos desoxiribonucléico e ribonucléico, P-lipídico, ésteres e Pi. A função do fósforo é alterada na presença de alumínio, uma vez que ocorre rápida ligação deste elemento com o P, alterando sua disponibilidade para as plantas. Assim, o metabolismo celular é afetado, normalmente resultando em danos irreversíveis já que a ligação do alumínio com o fósforo ocorre na forma de inibição não competitiva (Malavolta et al., 1997).

As concentrações de K e Mg foram maiores nas brotações mantidas em tratamento omissivo em alumínio. Dessa forma, a presença de alumínio também reduziu a concentração de K e Mg no tecido vegetal.

O potássio atua em processos osmóticos, na síntese e manutenção de proteínas, na abertura e fechamento dos estômatos, na permeabilidade da membrana, no controle do pH. O potássio pela adição de alumínio pode resultar em complexas alterações celulares, uma vez que o potássio é um ativador enzimático por excelência. A redução de deste elemento também foi encontrada em plantas crescidas em pH baixo e excesso de Al por Hirano e Hijii (1998). Zysset et al. (1996) encontraram que absorção de K por plântulas de nogueiras foi independente do aumento da concentração de Al na solução nutriente.

Na Tabela 2, são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson entre as doses de alumínio na solução e a concentração dos micronutrientes nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Houve diferença significativa apenas para os elementos Fe e Mn.

A Figura 4 mostra a concentração dos micronutrientes que apresentaram valores significativos pela correlação de Pearson presentes no tecido vegetal durante o período de cultivo.

**Tabela 2**

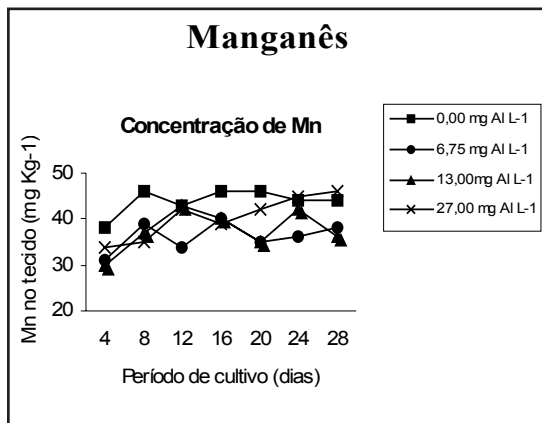
Coefficientes de correlação entre as concentrações de alumínio no meio de cultura e os teores dos nutrientes nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* durante o período de cultivo.

(Correlation coefficients among aluminum concentration in the culture media and the nutrient content in the *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots during the culture period)

Micronutrientes				
B	Cu	Fe	Mn	Zn
-0,01	0,06	-0,47	-0,47	0,20
n.s.	n.s.	*	*	n.s.

\* significativo a 5% de probabilidade; n.s. não significativo

As concentrações de Fe foram maiores nas brotações cultivadas no tratamento controle (omisso em Al) acentuadamente entre os dias 12 e 24. Para as brotações mantidas na presença de alumínio, ocorreu redução na concentração de Fe durante todo o período de cultivo.



**Figura 4.**

Concentração dos micronutrientes no tecido vegetal de brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* cultivadas em meio de cultura Gonçalves (1980), durante o período de cultivo.

(Micronutrient contents in the *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots cultivated in Gonçalves (1980) culture medium with different aluminum concentration during the growth period)

A absorção do ferro é influenciada por outros cátions como K, Ca e Mg. Neste caso, a presença de alumínio alterou a disponibilidade de alguns nutrientes resultando, indiretamente, na diminuição da concentração de ferro na planta conforme sugere Malavolta et al., (1997).

A concentração de Mn no tecido foliar parece ter sido pouco afetada pela presença de alumínio no meio de cultura, embora as brotações submetidas aos tratamentos com alumínio tenham apresentado variações nos teores de Mn durante o período de cultivo.

#### Avaliação do teor de proteínas solúveis totais

O teor de proteínas solúveis totais entre o oitavo e décimo sexto dia foi maior nas brotações pertencentes ao tratamento controle (Figura 5). Este período corresponde à fase exponencial de crescimento onde ocorreu um rápido crescimento das brotações para todos os tratamentos até atingirem um tamanho normal.

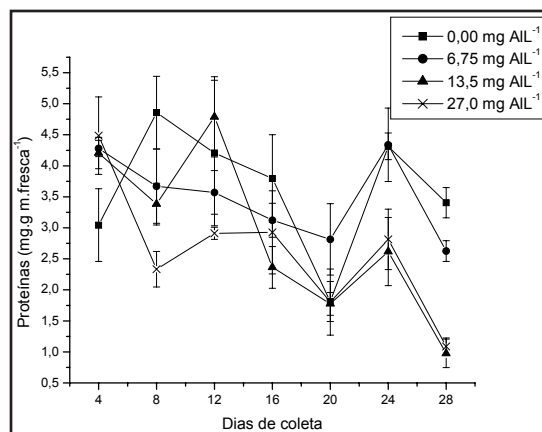
Diversos estudos têm mostrado o acúmulo de proteínas (simplasto) em plantas afetadas por Al. Enquanto Ownby e Hruschka (1991) afirmaram que Al parece causar aumento no teor de proteínas na fração citoplasmática de cultivares de trigo, Basu et al. (1994) não observaram tais mudanças nos padrões dos polipeptídeos nas membranas.

Os teores de proteínas e RNA são componentes celulares que podem ser relacionados com o crescimento (Dougall, 1972). Ao comparar a curva de massa seca das brotações de eucalipto (Figura 1) com o teor de proteínas (Figura 5), observa-se que praticamente em todos os tratamentos, a fase de crescimento linear está entre o oitavo e décimo segundo dia, período de maior acúmulo de proteínas solúveis totais nas brotações mantidas em tratamento omissivo em Al. Observa-se o oposto no tratamento com a maior dose de Al, que nesta mesma fase apresentou menores teores de proteínas solúveis totais.

A partir do vigésimo quarto dia, o controle difere dos demais e apresenta maior teor de proteínas solúveis totais, seguido pelo tratamento com 6,75 mgL<sup>-1</sup> Al, que também difere dos

outros tratamentos. As doses 13,5 e 27,0 mgL<sup>-1</sup> Al não diferem entre si, mas diferem dos demais tratamentos, apresentando os menores teores de proteínas.

Somers et al. (1996) mostraram que ocorreu diminuição no conteúdo de proteínas solúveis (citoplasma) em plantas submetidas a tratamentos com Al, tanto para plantas resistentes como sensíveis ao metal. Jan et al. (2001) também notaram que cultivares de arroz sensíveis ao Al apresentaram diminuição no teor de proteínas livres e aumento nas proteínas ligadas covalentemente à parede celular.



**Figura 5**

Teor de proteínas solúveis totais em brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* submetidas aos tratamentos com Al em diferentes épocas de cultivo (Linhas verticais mostram Médias  $\pm$  SD, n=4).

(Total soluble protein content in *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* shoots under Al treatments in different evaluation periods (Vertical lines show  $\pm$  SD of the mean, n=4))

A indisponibilização de alguns nutrientes, após a adição de Al alterou o metabolismo celular, sobretudo em processos altamente dependentes destes elementos, o que teria resultado no decréscimo no teor de proteínas. Estudos da deficiência de potássio indicaram que tal elemento esteja comprometido em vários processos metabólicos como acúmulo de aminoácidos, amidas e redução dos teores de proteína (Evans e Sorger, 1966). Basso (1974)



também sugeriu que a deficiência de potássio ou magnésio compromete a síntese protéica diretamente no processo de incorporação de aminoácidos em peptídeos.

A presença de alumínio pode inibir a absorção de outros íons, como o Mg (Malavolta et al., 1997). Este elemento desempenha importante função nas vias metabólicas como a glicólise, ciclo de Krebs e via pentose fosfato. A adição de alumínio indisponibilizou o Mg e a deficiência deste elemento possivelmente tenha reduzido a atividade destas vias metabólicas, como o ciclo de Krebs e também pode ter resultado numa alteração na biossíntese de proteínas, pois o Mg é necessário para a síntese protéica, como cofator de diversas enzimas (Boutler, 1970).

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir, que nas condições estudadas, a indisponibilização de nutrientes como cálcio, fósforo e potássio, causada pela adição de doses crescentes de alumínio ao meio de cultura, alterou o metabolismo celular, ocasionando alterações morfológicas na parte aérea (escurecimento, formação de calos e brotações rígidas), acúmulo de massa seca e redução de proteínas solúveis totais.

## AUTORES E AGRADECIMENTOS

LÚCIA HELENA MENEGON BASSO é Mestre em Ciências Florestais pelo Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP. Supervisora Administrativa do Polo de Capacitação de Educadores de Botucatu - Caixa Postal 545 - Botucatu, SP - 18618-000 - E-mail: lhmbasso@hotmail.com

ANTONIO NATAL GONÇALVES é Professor Doutor do Departamento de Ciências Florestais da

ESALQ / USP - Caixa Postal 9 - Piracicaba, SP - 13400-970 - E-mail: natalgon@esalq.usp.br

LICIANA VAZ DE ARRUDA SILVEIRA é Professora Doutora do Departamento de Bioestatística - IB/UNESP - Caixa Postal 510 - Botucatu, SP - 18618-000 - E-mail: liciana@ibb.unesp.br

GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA é Professora Adjunto do Departamento de Química e Bioquímica - IB/UNESP - Caixa Postal 545 - 18618-000 - Botucatu, SP - E-mail: gpplima@ibb.unesp.br

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALESSA, L.; OLIVEIRA, L. Aluminum toxicity studies in *Vaucheria longicaulis* var. *macounii* (Xanthophyta, Tribophyceae): 1- effects on cytoplasm organization. **Environmental and experimental botany**, v.45, p.205-232, 2001.
- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242p.
- ARDUINI, L.; KETTNER, C.; GODBOLD, D.L.; ONNIS, A.; STEFANI, A. pH influence on root growth and nutrient uptake of *Pinus pinaster* seedlings. **Chemosphere**, v.36, p.733-738, 1998.
- BAESTER, C.F.; MESMER, R.E. **The hydrolysis of cations**. New York: John Wiley, 1976. 523p.
- BASSO, L.C. **Formação de di- e poliaminas em plantas deficientes em potássio e magnésio**. Piracicaba, 1974. 40p. Tese (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- BASU, A.; BASU, U.; TAYLOR, G.J. Induction of microsomal membrane proteins in roots of an aluminum-resistant cultivars of *Triticum aestivum* L. under conditions of aluminum stress. **Plant physiology**, v.104, p.1007-1013, 1994.
- BOUTLER, D. Protein synthesis in plants. **Annual review of plant physiology**, v.21, p.93-114, 1970.
- BRADFORD, M.M.A. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

- CLARK, R.B.; ZETO, S.K. Mineral nutrition by micorrhizal maize grown on acid an alkaline soil. **Soil biological and biochemistry**, v.28, p.1495-1503, 1996.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant physiology**, v.107, p.315-321, 1995.
- DOUGALL, D. K. Cultivation of plant cells. In: ROTHBLAT, G.H.; CRISTOFALO, V.J., ed. **Growth, nutrition and metabolism of cell in culture**. New York: Academic Press, 1972. p.371-406.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1975. 344p.
- EVANS, H.J.; SORGER, G.J. Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. **Annual review of plant physiology**, v.17, p.47-76, 1966.
- FOY, C.D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual review plant physiology**, v.29, p.511-566, 1978.
- GONÇALVES, A.N. Reversion to juvenility and cloning of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in cell and tissue culture systems. In: SIMPÓSIO IUFRO EM MELHORAMENTO GENÉTICO E PRODUTIVIDADE DE ESPÉCIES FLORESTAIS DE RÁPIDO CRESCIMENTO, Águas de São Pedro, 1980. **Anais**. s.p.
- HIRANO, Y.; HIJII, N. Effects of low pH and aluminum on root morphology of Japanese red cedar saplings. **Environmental pollution**, v.101, p.339-347, 1998.
- ISLAM, A.K.M.S.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J. pH optima for crop growth: result of flowing solution culture experiment with six species. **Plant soil**, v.54, p.339-357, 1980.
- IZUTA, T.; MIWA, M.; MIYAKE, H.; TOTSUKA, T. Effects of low pH and excess Al on growth, water content and nutrient status of Japanese cedar seedlings. **Environmental sciences**, v.4, p.113-125, 1996.
- JAN, F.; YAMASHITA, K.; MATSUMOTO, H.; MAEDA, M. Protein and preoxidase changes in various root-cell fractions of two upland rice cultivars differing in Al tolerance. **Environmental and experimental botany**, v.46, p.141-146, 2001.
- KOCHIAN, L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual review plant physiology and plant molecular biology**, v.46, p.237-260, 1995.
- KOHNO, Y.; MATSUMURA, H.; KOBAYASHI, T. Effects of aluminum on the growth and nutrient uptake in *Cryptomeria japonica* D. Don and *Chamaecyparis obtusa* Sieb. Et Zucc. **Journal of Japan Society for Amospheric Environment**, v.30, p.316-326, 1995.
- KOHNO, Y.; MATSUMURA, H.; KOBAYASHI, T. Effects of solution pH on the growth of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtuse* in growth in nutrient solution culture. **Journal of Japan Society for Amospheric Environment**, v.32, p.29-37, 1997.
- LARSEN, P.B.; TAI, C.; KOCHIAN, L.V.; HOWELL, S.H. Arabidopsis mutants with increased sensitivity to aluminum. **Plant physiology**, v.110, p.743-751, 1996.
- LINDBERG, S. Aluminum interacts with K<sup>+</sup> (86 Rb) and 45 Ca<sub>2</sub> + fluxes in three cultivars of sugar beet (*Beta vulgaris*). **Physiologia plantarum**, v.79, p.275-282, 1990.
- MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends in plant science**, v.6, p.273-279, 2001.
- MACHADO, I.S. **Atividade de enzimas do metabolismo de compostos secundários comprometidos com o enraizamento "in vitro" de Eucalyptus grandis Hill ex Maiden**. Piracicaba, 1993. 93p. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- OWNBY, J.D.; HRUCHSKA, W.R. Quantitative changes in cytoplasmatic and microsomal proteins associated with aluminum toxicity in two cultivars of winter wheat. **Plant cell environmental**, v.14, p.303-309, 1991.
- PERSSON, H.; MADJII, H. Effects of acid deposition on tree roots in Swedish forest stands. **Water, air and soil pollution**, v.85, p.1287-1292, 1995.
- ROY, A.K.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Some aspects of aluminum toxicity in plants. **The botanical review**, v.54, n.2, p.145-178, 1988.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1974. 56p.
- SOMERS, D.J.; BRIGGS, K.G.; GUSTAFSON, J.P. Aluminum stress and protein synthesis in near isogenic lines of *Triticum aestivum* differing in aluminum tolerance. **Physiologia plantarum**, v.97, p.694-700, 1996.
- TAYLOR, G.H. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. **Communications in soil science and plant analysis**, v.19, p.1179-1194, 1988.
- VANGELISTI, R.; VIEGI, L.; CELA RENZONI, G. Responses of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedling roots to substrata at different pH values. **Annual botany fennici**, v.32, p.19-27, 1995.

- VÁZQUEZ, M.D.; POSCHENRIEDER, C.; CORRALES, I.; BARCELÓ, J. Change in apoplastic Al during the initial growth response to Al by roots of a resistant maize variety. **Plant physiology**, v.119, p.435-444, 1999.
- YAMAMOTO, Y.; HACHIYA, A.; MATSUMOTO, H. Oxidative damage to membranes by combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells. **Plant cell physiology**, v.38, p.1333-1339, 1997.
- ZYSSET, M.; BRUNNER, I. FREY, B.; BLASER, P. Response of European chestnut to varying calcium/aluminum ratios. **Journal of environmental quality**, v.25, p.702-708, 1996.