**AVALIAÇÃO DA AÇÃO TÓXICA DO ALUMÍNIO ATRAVÉS DE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PLANTAS DE DUAS
POPULAÇÕES DE MILHO (*Zea mays* L.)**

ANA CRISTINA CORREIA SIEWERT
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS BASSO

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências, Área de Concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Maio - 1994

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

Siewert, Ana Cristina Correia
S573a Avaliação da ação tóxica do alumínio através de
parâmetros bioquímicos em plantas de duas populações
de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1994.
92p.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Alumínio em milho - Toxidez - Avaliação 2. Milho
Tolerância ao alumínio I. Escola Superior de Agricultu
ra Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.15

AVALIAÇÃO DA AÇÃO TÓXICA DO ALUMÍNIO ATRAVÉS DE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PLANTAS DE DUAS
POPULAÇÕES DE MILHO (*Zea mays* L.)

Ana Cristina Correia Siewert

Aprovada em 01.06.1994

Comissão Julgadora

Prof. Dr. Luiz Eduardo Gutierrez

Dr. Pedro Roberto Furlani

ESALQ/USP

ESALQ/USP

Prof. Dr. Luiz Carlos Basso

Orientador

OFEREÇO

A meus pais Jens e Alda e as
minhas irmãs Regina e Viviane.

DEDICO,

À meu noivo Marco Antonio Garófalo

AGRADECIMENTOS

À Deus, sem o qual este trabalho não se concluiria.

Ao Departamento de Química da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queirós.

Ao prof. Dr. Luiz Carlos Basso, pela orientação e sugestões durante a execução desta dissertação.

Ao Dr. Pedro Roberto Furlani, Pesquisador Científico do Instituto Agronômico de Campinas, pela cessão do material vegetal utilizado na parte experimental deste trabalho.

Ao prof. Dr. George John Shepherd, professor do Departamento de Botânica do IB/UNICAMP, pela confecção do summary.

Ao prof. Dr. Luiz Eduardo Gutierrez, pela disponibilidade e amizade demonstrados em todos os momentos.

Aos colegas da Seção de Raízes e Tubérculos do Instituto Agronômico de Campinas, pelo apoio e amizade durante a redação desta.

Aos funcionários do Setor de Bioquímica da ESALQ, Valentina de Fátima, Ademir e Luiz Lucatti pela amizade em todos os momentos da execução desta dissertação.

À CAPES pela bolsa de estudos.

"Espera no Senhor e pratica o bem, para habitares na terra e gozares segurança. Põe suas delícias no Senhor, Ele atenderá aos desejos de seu coração. Entrega ao Senhor o teu destino, confia nele; e Ele agirá."

(Salmo 36,3-5)

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	xv
SUMMARY.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. Obtenção do material vegetal.....	14
3.2. Condução dos ensaios.....	16
3.2.1. Ensaio com 0,0 e 4,5 ppm de Alumínio e colheita aos 21 dias.....	16
3.2.2. Ensaio com quatro diferentes concentrações de Alumínio.....	17
3.2.3. Ensaio com 0,0 ppm de Al e colheita aos 7, 14 e 21 dias.....	18
3.2.4. Ensaio com 0,0 e 4,5ppm de Al aos 2, 4 e 7 dias de germinação.....	18
3.3. Análises químicas	
3.3.1. Determinação de potássio, cálcio, magnésio, fósforo e alumínio.....	19
3.3.2. Determinação de N-total.....	19
3.3.3. Determinação de nitrato.....	20
3.3.4. Determinação de amônia.....	20

3.3.5. Determinação de prolina.....	21
3.3.6. Determinação da atividade de Redutase de Nitrato.....	21
3.3.7. Determinação da atividade de Fosfatase Ácida.....	22
3.3.8. Determinação da atividade de Peroxidase.....	22
3.3.9. Determinação da atividade de Amina Oxidase.....	23
3.4. Análise estatística.....	23
 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1. Efeito do alumínio no teor de matéria seca.....	24
4.2. Efeito do alumínio na altura de planta e comprimento de raiz.....	26
4.3. Efeito do alumínio na composição mineral.....	29
4.4. Efeito do alumínio na atividade de Redutase de Nitrato.....	39
4.5. Efeito do alumínio nos teores de nitrato e amônia.....	42
4.6. Efeito do alumínio na atividade de Fosfatase Ácida.....	45
4.7. Efeito do alumínio no teor de prolina.....	47
4.8. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase.....	48
4.9. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase	51
 5. CONCLUSÕES.....	58
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
 APÊNDICE.....	74

LISTA DE FIGURAS

	Página
01a. Teor de matéria seca em folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhida aos 21 dias	25
01b. Teor de matéria seca em raízes de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível cultivado em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhida aos 21 dias.	25
02a. Teor de matéria seca em folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS), cultivadas em quatro diferentes concentrações de Al e colhidas aos 7 dias	26
03a. Altura de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas com 0,0 e 4,5ppm de Al e colhidas aos 21 dias.	27
03b. Comprimento de raízes de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas com 0,0 e 4,5ppm de alumínio e colhidas aos 21 dias.	28
04a. Altura de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante), cultivadas em quatro concentrações de Al e colhidas aos 7 dias	28

04b. Comprimento de raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em quatro concentrações de Al e colhidas ao 7 dias.	29
05a. Efeito do alumínio no teor de fósforo em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com duas concentrações de Al e colhidas aos 21 dias.	31
06a. Efeito do alumínio no teor de fósforo em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com duas concentrações de Al e colhidas aos 21 dias.	31
05b. Efeito do alumínio no acúmulo de Al em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	32
06b. Efeito do alumínio no teor de Al em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	33
05c. Efeito do alumínio no teor de potássio em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	34

06c. Efeito do alumínio no teor de potássio em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	34
05d. Efeito do alumínio no teor de magnésio em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	36
06d. Efeito do alumínio no teor de magnésio em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	36
05e. Efeito do alumínio no teor de cálcio em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	37
06e. Efeito do alumínio no teor de cálcio em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	37
05f. Efeito do alumínio no teor de N-total em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.	38

- 06f. Efeito do alumínio no teor de N-total em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias. 39
07. Efeito do alumínio na atividade de Redutase de Nitrato em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS), cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhidas aos 21 dias. 41
08. Efeito do alumínio sobre a atividade de Redutase de Nitrato em folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante e Taiúba Sensível cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e medidas aos 7, 14 e 21 dias. 41
09. Efeito de quatro diferentes concentrações de alumínio(0,0; 1,5; 4,5 e 9,0 ppm de Al) na atividade de Redutase de Nitrato de folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) medidas aos 7 dias de cultivo. 42
- 010a. Efeito do alumínio no teor de nitrato em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhidas aos 21 dias. 43

- 010b. Efeito do alumínio no teor de nitrato em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhidas aos 21 dias 44
- 11a. Efeito do alumínio no teor de NH_4 em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias. 44
- 11b. Efeito do alumínio no teor de NH_4 em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias. 45
12. Efeito de quatro diferentes concentrações de alumínio na atividade de Fosfatase Ácida em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) medidas aos 7 dias. 46
13. Efeito do alumínio sobre a atividade de Fosfatase Ácida em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al medidas aos 7, 14 e 21 dias. 47
14. Efeito de diferentes concentrações de alumínio no teor de prolina em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) colhidas aos 7 dias 48

15. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase em radícula de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) germinado na presença de solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al medida aos 2,4 e 7 dias, utilizando putrescina como substrato para a enzima. 49
16. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase em radícula de milho(Taiúba Tolerante-TT e taiúba Sensível-TS) germinado em presença de solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e medido aos 2,4 e 7 dias, utilizando espermidina como substrato para a enzima. 50
17. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase em folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e medidas aos 7, 14 e 21 dias, utilizando-se putrescina como substrato para a enzima. 50
18. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase em folhas de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e medidas aos 7, 14 e 21 dias. utilizando-se espermidina como substrato para a enzima. 51
19. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase de radícula de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS), medidas em 52

μM Pirogalol/grama de matéria fresca/segundos, aos 2, 4 e 7 dias de germinação.

20. Efeito do alumínio em 4 diferentes concentrações na atividade de peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca/segundo) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva e analisadas aos 7 dias. 53
21. Efeito do alumínio em 4 diferentes concentrações na atividade de Peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca/segundo) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva e analisadas aos 7 dias. 53
22. Efeito do alumínio na atividade de peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al analisadas aos 7 dias. 55
23. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase(medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 7 dias. 55

24. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 14 dias. 56
25. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 14 dias. 56
26. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 21 dias. 57
27. Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (medida em μM Pirogalol/grama de matéria fresca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 21 dias. 57

AVALIAÇÃO DA AÇÃO TÓXICA DIFERENCIAL DO ALUMÍNIO ATRAVÉS DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PLANTAS DE DUAS POPULAÇÕES DE MILHO (*Zea mays* L.)

Autora: Ana Cristina Correia Siewert

Orientador: Luiz Carlos Basso

RESUMO

O presente trabalho foi realizado na ESALQ/USP e teve por objetivo estudar o comportamento do alumínio no metabolismo de plantas de milho (*Zea mays* L.) das populações Taiúba tolerante e sensível, obtidas de dois ciclos de seleção divergente para tolerância a esse íon.

O estudo foi conduzido com base em quatro ensaios os quais procuraram avaliar o efeito tóxico do alumínio solúvel nas plantas acima citadas. Foram realizadas análises dos teores de alguns minerais (fósforo, cálcio, magnésio, potássio, alumínio e N-total), nitrato, amônia e prolina. Também foram estudados os efeitos do alumínio nas atividades foliares de Redutase de Nitrato, Fosfatase Ácida, Amina Oxidase e Peroxidase

Os resultados obtidos demonstram que há diferenças significativas entre a cultivar sensível e a tolerante quanto aos parâmetros analisados. Plantas tolerantes apresentaram maiores crescimento de raiz e altura de planta com pouca ou nenhuma influência do alumínio nos demais parâmetros. Maiores alterações na composição mineral devido ao estresse pelo alumínio bem como menores teores foliares de nitrato, amônia e N-total foram encontrados no cultivar sensível.

Com relação as enzimas estudadas constatou-se que o cultivar sensível sofreu as maiores alterações enquanto que o tolerante pouca ou nenhuma. Redutase de Nitrato sofreu redução de atividade na presença do alumínio, em especial na cultivar sensível. A Fosfatase Ácida não apresentou uma resposta uniforme para ambos os cultivares estudados. Peroxidases e Amina Oxidases apresentaram aumento de atividade quando em presença do alumínio. Observou-se também o acúmulo de prolina em folhas de plantas sensíveis estressadas.

EVALUATION OF THE DIFFERENTIAL TOXIC ACTION OF ALUMINIUM USING BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO MAIZE (*Zea mays*) POPULATION.

Author: Ana Cristina Correia Siewert

Supervisor: Luiz Carlos Bassso

SUMMARY

The present study was carried out at ESALQ/USP and its main objective was to study the effect of aluminium on the metabolism of maize plants belonging to the tolerant Taiúba and sensitive Taiúba cultivars ("Taiúba tolerante" and "Taiúba Sensível"), which resulted from two cycles of divergent selection to aluminium tolerance.

The study was based on four experiments which attempted to evaluate the toxic effect of soluble aluminium on these plants. Levels of some elements (phosphorus, calcium, magnesium, potassium, aluminium and total nitrogen), nitrate, ammonia and proline were measured. The effects of aluminium on the foliar activity of Nitrate Reductase, Acid Phosphatase, Amine Oxidase and Peroxidase were also studied.

The results obtained show significant differences in the parameters measured between the sensitive and tolerant cultivars. Tolerant plants showed greater root growth and plant height, with little or no effect on biochemical parameters. Greater changes in mineral composition due to aluminium-induced stress, and lower levels of nitrate, ammonium and total-N were found in the sensitive variety.

With regard to the enzymes studied, the sensitive cultivar suffered the greatest change while the tolerant form showed little or none. Nitrate Reductase activity was lower in the presence of aluminium, especially in the sensitive cultivar. Acid Phosphatase did not show a uniform response in either of the two cultivars, while Peroxidases and Amine Oxidases showed an increase in activity in the presence of aluminium. An accumulation of proline was also observed in leaves of stressed sensitive plants.

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores que limitam o desenvolvimento vegetal, em especial nos solos de cerrado do Brasil, é a alta concentração de alumínio solúvel.

Plantas crescidas em solos ácidos apresentam crescimento e produtividade limitados, haja visto que a redução do crescimento radicular afeta a absorção de nutrientes (OLMOS E CAMARGO, 1976).

Apesar do alumínio reduzir a produção vegetal em muitas partes do mundo, as bases fisiológicas para a sua tolerância ainda não são conhecidas (FOY et alii.,1978).

Acredita-se que parte da tolerância diferencial resida no fato de que plantas tolerantes possam absorver nitrato em presença de amônio. TAYLOR (1988) sugere que deve existir relação entre a forma de nitrogênio absorvido e o aumento de pH. Ácidos orgânicos teriam seus teores aumentados em plantas na presença de nitrogênio na forma nítrica, enquanto que poliaminas se elevariam em presença de nitrogênio na forma amoniacal.

A hipótese mais aceita para o mecanismo de tolerância

sugere que ácidos orgânicos liberados pela planta formem complexos solúveis com o alumínio, eliminando sua toxicidade (KLIMASHEVSKII, 1980).

Os sintomas fisiológicos causados pelo alumínio incluem interferência na divisão celular, queda de taxa respiratória, interferência com enzimas da parede celular, aumento da rigidez celular, interferência com absorção, transporte e metabolismo de nutrientes inorgânicos e água (ROY et alii, 1988)

O presente trabalho teve por objetivo estudar a influência do alumínio nos cultivares Taiúba Sensível e Taiúba Tolerante, quanto aos teores de nitrato, amônia, alguns minerais e prolina, bem como nas atividades de Redutase de Nitrato, Fosfatase Ácida, Amina Oxidase e Peroxidase, quer na busca de mecanismos da ação tóxica do alumínio quer na procura de parâmetros para se avaliar a tolerância manifestada por determinados cultivares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

É conhecido o fato de solos de regiões tropicais e subtropicais úmidas serem ácidos e apresentarem altos teores de alumínio trocável. No Brasil este problema é particularmente importante nas regiões de cerrado para onde a agricultura tem-se expandido (OLMOS E CAMARGO, 1976), sendo limitante ao crescimento de cereais (FAGERIA & ZIMMERMAN, 1979). Sob a vegetação do cerrado, que no Brasil totaliza cerca de 1,8 milhões de Km², encontram-se solos com elevada acidez e baixos teores de Ca, Mg e K e elevados teores de Al trocável (CAMBRAIA, 1989).

FOY (1976) sugere que a toxidez do alumínio é particularmente severa em solos com valores de pH ao redor de 5,0, sendo que o elemento pode ocorrer em concentrações tóxicas ao redor de pH 5,5. Plantas em solos ácidos onde é difícil proceder-se a correções calcárias com facilidade, apresentam pouco desenvolvimento radicular e conseqüentemente a absorção de nutrientes torna-se prejudicada (OLMOS E CAMARGO, 1976).

O alumínio reduz a produção vegetal em muitas partes do mundo, contudo as bases fisiológicas para a tolerância ao íon ainda não são conhecidas (FOY et alii.,1978), sendo que somente um pequeno número de

espécies economicamente importantes foram estudadas (MODA-CIRINO, 1984).

É conhecido na literatura que os mecanismos de tolerância ao alumínio podem ser controlados por diferentes genes através de mecanismos bioquímicos diversos (FOY et alii., 1978). Tem-se observado que parte da tolerância diferencial se deve ao fato da planta excluir Al da raiz e ou complexar o íon em seu interior (ROY et alii., 1988 ; TAYLOR, 1988). A hipótese mais aceita para o mecanismo de tolerância sugere que ácidos orgânicos liberados pela planta formam complexos solúveis com o alumínio, eliminando sua toxicidez. Ácidos cítrico e málico são produzidos em maiores quantidades em plantas tolerantes que em sensíveis (KLIMASHEVSKII, 1980; SUHAYDA & HAUG, 1986).

MIYASAKA et alii. (1989) em estudos realizados com trigo demonstraram que a tolerância estava relacionada com a maior habilidade em manter-se normal o fluxo de íons e o potencial da membrana das células da raiz na presença do alumínio.

Os sintomas gerais de toxidez de alumínio em plantas tem sido descritos na literatura (FOY et alii., 1978; ROY et alii, 1988), abrangendo sintomas foliares que não são facilmente identificados. Em algumas plantas estes assemelham-se à deficiências de fósforo, em outras causam deficiência de cálcio induzida. A não translocação do alumínio para parte aérea foi relatada ocorrer em milho por RASMUSSEM (1968), sendo que o íon liga-se à superfície da raiz e paredes celulares (CLARKSON, 1967). Para RYAN et alii. (1993), o meristema seria o primeiro sítio de atuação da toxicidez do Al. No entanto o acúmulo de alumínio na parte aérea é insignificante em relação às raízes e não serve para

discriminar entre cultivares sensíveis e tolerantes na maioria das plantas cultivadas (FOY et alii, 1978; BALAKUMAR et alii, 1992).

Os danos causados pelo alumínio em raízes são característicos pois estas apresentam-se curtas, quebradiças, grossas e de coloração marrom, sendo que o sistema radicular torna-se compacto, carente de ramificações finas. Os sintomas visuais apenas refletem as inúmeras interferências que o Al exerce sobre íons e ou moléculas, processos e estruturas celulares em diversos graus de intensidade e complexidade (CAMBRAIA, 1989).

Os sintomas fisiológicos causados pelo alumínio incluem interferência na divisão celular, queda na taxa respiratória, interferência com enzimas da parede celular, aumento na rigidez celular, interferência com absorção, transporte e metabolismo de nutrientes inorgânicos e água (ROY et alii., 1988).

Não existe na literatura dados consistentes sobre os efeitos do alumínio nos teores de cátions monovalentes (RENGEL, 1992) sendo que em algumas plantas há aumento na concentração, enquanto em outras queda, quando crescidas em presença do íon (ROY et alii, 1988). Em contraste, é muito conhecido o fato de teores de cátions bivalentes diminuírem em presença do alumínio (FOY et alii., 1978; ROY et alii., 1988).

O alumínio reduz o acúmulo de cátions bivalentes , especialmente o cálcio e o magnésio (RENGEL, 1992), e estimula o fluxo de ânions (NICHOL et alii., 1993), através da interferência no transporte da membrana, promovendo parada do crescimento da parede celular radicular.

HUANG et alii. (1992) demonstraram que plantas de trigo quando estressadas com alumínio apresentavam inibição do fluxo de cálcio no plasmalema das raízes, sendo que este efeito era extremamente acentuado em plantas não tolerantes ao íon. Sugeriram então que a inibição do transporte de cálcio deveria ocorrer na fase final da toxidez de alumínio, possuindo este nutriente um importante papel na toxidez por alumínio em plantas superiores. MINOCHA et alii. (1992) em estudos realizados com células de *Catharanthus roseus* em suspensão, demonstraram que ocorreu um aumento nos teores de cálcio, magnésio, potássio e fósforo nos primeiros três dias de cultivo, sugerindo então os autores que o tempo de exposição ao alumínio é importante para a toxidez celular

MOUSTAKAS et alii. (1992) estudando cultivares sensíveis de trigo observaram que os níveis de cálcio, magnésio, potássio e ferro decresceram quando em presença de alumínio. Estudos realizados com sorgo demonstraram que apesar do alumínio diminuir o nível de todos os nutrientes apenas o magnésio apresentou níveis abaixo do considerado crítico para a espécie em questão (KELTJENS & van ULDEN, 1987).

ALAM (1983) observou que em arroz o Al competia com o potássio pelos sítios de absorção na raiz, diminuindo a absorção do nutriente com a conseqüente redução da concentração em raízes e parte aérea. Entretanto, CANAL & MIELNICZUK (1983) e THORNTON et alii. (1986) reportam que em presença de alumínio os teores de potássio aumentaram em milho e *Acer spp.*

HUANG et alii (1992) observaram que quanto menor a

relação potássio/magnésio, maior era a tolerância da planta ao estresse causado pelo alumínio, resultando em plantas com maior crescimento de raiz e matéria seca.

FAGERIA et alii.(1989) estudando o efeito do alumínio em vários cultivares de arroz, verificaram que em plantas mais tolerantes a este íon, o nível de fósforo era maior sendo que isto correlacionava-se diretamente com o crescimento das plantas. Anteriormente, ALAM (1983) já demonstrara em arroz a queda do teor de fósforo em plantas estressadas pelo alumínio. Contudo, estudos realizados com aveia estressadas com 7,5ppm de Al (FLOSS, 1992) demonstraram um aumento no teor de fósforo, contrariando afirmações anteriores constantes na literatura.

KEZHENG & KELTJENS (1990) estudando o efeito do íon alumínio em plantas de sorgo verificaram que na ausência de níveis adequados de fósforo a expressão de toxidez era maior.

Variações nos teores de fósforo acarretam mudanças na absorção de nutrientes. Estresse por alumínio interfere com o metabolismo de fósforo nas plantas pois há interferência em moléculas orgânicas (FOY et alii.,1978). Plantas com menores teores deste nutriente apresentam menores teores de nitrogênio e potássio sendo que em presença do alumínio este efeito é aumentado. Plantas com teores mais baixos de fósforo mostram preferência para absorção de amônia, resultando em excesso de cátion em relação ao ânion absorvido por unidade de biomassa.

CLARK & BROWN (1974) estudando a atividade da fosfatase

ácida na raiz de duas cultivares de milho verificaram que a tolerante apresentava maior atividade em relação a sensível, sendo esta diminuída em ambos os cultivares com o aumento da deficiência de fósforo. Entretanto, CALBO(1978) em estudos realizados com sorgo constatou que fosfatases não apresentavam alteração em sua atividade quando em presença de alumínio.

Em recente revisão, RABE (1990) propôs que qualquer condição estressante causando alteração no nível de açúcares, e ou redução no crescimento ou sanidade vegetal, resultaria em acúmulo precoce de amônio durante o desenvolvimento vegetal em tal situação.

Em solos ácidos, onde a nitrificação é inibida o amônio torna-se fonte importante de nitrogênio, sendo que as plantas tolerantes ao alumínio também o são a níveis tóxicos de amônio (FOY et alii.,1978).

O alumínio aumenta o fluxo de H^+ em *Zea mays* (BENNET et alii.,1987) e em *Sorghum bicolor* concomitantemente com o aumento do teor de amônia e queda do de nitrato (KELTJENS & ULDEN, 1987).

Tem sido demonstrado na literatura que existe correlação entre a forma de nitrogênio absorvida , quer na forma amoniacal, quer na forma nítrica, com a alteração do pH da rizosfera induzido pela planta e a tolerância diferencial de genótipos (CUNHA, 1980 ; FURLANI & CLARK, 1981; FLEMING, 1983; TAYLOR & FOY, 1985). Estes autores observaram em milho, sorgo e trigo, que plantas que resistem a uma queda do pH, isto é consomem menos amônio, são mais tolerantes ao alumínio. Conseqüentemente a relação nitrato/amônio seria um importante fator para a mudança do pH da rizosfera sendo que o

mecanismo diferencial de tolerância ao estresse pelo alumínio estaria associado às diferentes fontes de N (TAYLOR, 1988), onde plantas tolerantes absorveriam nitrato mais rapidamente que o amônio (CAMBRAIA, 1989).

RITCHEY & CARTER (1993) verificaram que plantas de soja não nodulantes quando em presença de altos níveis de Al tinham seu teor de N-total foliar e crescimento diminuídos.

Experimentos realizados com sorgo demonstraram que o alumínio causou uma redução no nível de nitrato e não de amônia sendo este efeito muito mais pronunciado em cultivar sensível. Alumínio aumentou o teor de amônio interno em detrimento de outros cátions tais como cálcio, magnésio e potássio (KELTJENS & van ULDEN, 1987).

CAMBRAIA et alii.(1989) observaram que cultivares de sorgo sensíveis e tolerantes ao alumínio tendiam a ter menos nitrato devido à inibição da atividade de Redutase de Nitrato e que estes diferentes cultivares mantinham sua tolerância diferencial quando cultivados separados ou juntos em um mesmo recipiente(GALVEZ & CLARK, 1991). Esta queda da atividade de Redutase de Nitrato foi também observada ocorrer em milho por SANTORO et alii.(1984), os quais propuseram ocorrer um efeito do alumínio nas membranas celulares causando uma inibição do sistema de absorção do nitrato. No entanto, cultivar tolerante parece apresentar Redutase do Nitrato menos susceptível ao Al (FOY & FLEMING, 1982; CAMBRAIA, 1989), promovendo assim maior assimilação de N (CLARK & BROWN, 1974). É necessário observar-se que o Al interage com potássio que por sua vez induz a formação da Redutase do Nitrato (NITSOS &

EVANS, 1966).

Esta redução da atividade de Redutase de Nitrato foi confirmada posteriormente por BALAKUMAR et alii.(1992) em plantas de arroz onde verificaram que quanto maior a tolerância do genótipo ao estresse maior a atividade da enzima. Alta atividade de redução na parte aérea, estimula a absorção de nitrato pelas raízes (BEN ZIONI et alii., 1971) levando a um aumento do pH da rizosfera.

FOSS (1992) sugere que a atividade da Redutase do Nitrato permite avaliar o estado nutricional da planta quanto ao teor de nitrogênio, sendo este freqüentemente relacionado com o crescimento da planta e a sua produtividade. Em seus estudos observou que a atividade da Redutase do nitrato em aveia decrescia com o período de cultivo, sendo maior na fase inicial.

TAYLOR (1988) estudando cultivares de trigo tolerante e não tolerante ao Alumínio constatou que a tolerância não poderia ser explicada unicamente pela habilidade de algumas plantas em manter o pH da solução em valores elevados, o que seria conseguido segundo a hipótese da absorção diferencial de N. Devido a relação existente entre fonte de nitrogênio, pH da solução e tolerância diferencial ao Al, foi proposto que estes efeitos não seriam apenas conseqüências da toxidez causada pelo íon, mas contribuiriam para a expressão da tolerância diferencial em trigo. TAYLOR (1988) sugeriu que a relação observada entre a fonte de nitrogênio e o aumento de pH, poderia ser resultado de um possível papel de ácidos orgânicos ou poliaminas na expressão de tolerância ou toxicidade. Ácidos orgânicos aumentariam em plantas na presença

de nitrogênio na forma nítrica e poliaminas aumentariam em plantas na presença de nitrogênio na forma amoniacal. Ambos estariam implicados na resposta das plantas ao estresse mineral.

Posteriormente, TONIN et alii.(1991) encontraram que plantas de *Alnus glutinosa* quando em presença de nitrogênio na forma nítrica apresentava baixos teores de poliaminas enquanto que na presença de nitrogênio na forma amoniacal estes teores eram muito maiores.

Nos últimos anos tem aumentado o interesse sobre o papel das poliaminas quanto a sua resposta aos mais variados estresses ambientais (SMITH, 1985).

A diamina putrescina é conhecida por acumular-se em plantas sujeitas a condições adversas tais como deficiências minerais, estresse salino, estresse osmótico, nutrição amoniacal, estresse ácido, injúrias causadas por temperaturas baixas e altas, seca e poluição ambiental causada por ozônio (FLORES, 1991). Em geral plantas estressadas apresentam uma relação putrescina/espermidina maior (FRIEDMAN et alii., 1989).

A diamina putrescina é precursora imediata das poliaminas espermidina e espermina, sendo que é relatado com abundância na literatura o papel fisiológico destas, tanto em tecidos vegetais quanto em animais e microorganismos (BACHARACH, 1970; STEVENS, 1970; SMITH, 1971; SMITH, 1975; GALSTON, 1983; SLOCUM et alii., 1984; TABOR & TABOR, 1984; SMITH, 1985; ADIGA & PRASAD, 1985; EVANS & MALLMBERG, 1989; GALSTON & SAWHNEY, 1990).

Outra substância que também acumula-se em situações estressantes é a prolina. KUZNETSOV et alii.(1991) constataram que existe correlação entre acúmulo de prolina e de poliaminas na tolerância destas ao estresse salino e à altas temperaturas, apenas estas últimas manifestam ação fisiológica, interagindo com membranas, proteínas e ácidos nucleicos (YOUNG & GALSTON, 1988; ZAGO, 1978).

Plantas de milho em desenvolvimento apresentam picos de acúmulo de prolina coincidindo com maiores teores de matéria seca, sendo esta resposta também encontrada quando as plantas estão sob estresse hídrico (VENEKAMP & KOOT, 1988)

IBARRA-CABALERO et alii.(1988) sugerem que a prolina em milho não seria indicadora de resistência ao estresse hídrico e sim um sintoma fisiológico deste.

STROGONOV (1964) citado por TATTINI et alii.(1998) mostrou que a diferença entre as espécies no tocante ao acúmulo de putrescina poderia ser baseado na ação da diamina oxidase. Ele sugeriu que a putrescina poderia ser disaminada pela ação da enzima, levando a formação de prolina como produto final.

Poliaminas podem ser oxidadas através da ação de amina oxidases, enzimas encontradas em bactérias, fungos, animais e plantas , levando a formação de aminoaldeído com liberação de amônio e peróxido de hidrogênio (FREDERICO & ANGELINE, 1991).

Amina Oxidases podem ser divididas em diamina oxidases, enzimas que catalizam a oxidação de putrescina, cadaverina e espermidina e poliamina oxidases, enzimas que catalizam a oxidação de espermidina e espermina, sendo estas encontradas aparentemente apenas em monocotiledôneas (FREDERICO & ANGELINI, 1991).

KENTEN & MANN (1952) em estudos realizados com ervilha são os primeiros a reportar que a atividade de diamina oxidases somente se faz presente em plantas durante a germinação sendo praticamente inexistentes ou em baixa atividade em plantas adultas.

Posteriormente, TORRIGIANI et alii(1988) observaram um aumento de atividade de Poliamina Oxidases em milho em germinação, sugerindo estar a enzima provavelmente associada com a formação de parede celular.

HIRASAWA & SUZUKI (1975) relatam que a parte aérea do milho foi incapaz de oxidar putrescina, oxidando apenas espermidina.

Devido a formação do peróxido, as Amina Oxidases em geral estão associadas a peroxidase, enzima que participa juntamente com as anteriores, de alguns processos fisiológicos na células tais como suberização, lignificação e catabolismo de AIA (FREDERICO & ANGELINI, 1988).

Experimentos realizados com sorgo demonstraram que o alumínio aumentou a atividade da peroxidase em raízes de cultivar sensível (GONÇALVES et alii., 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Sementes de milho (*Zea mays*) de duas populações (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) originadas de dois ciclos de seleção divergente para tolerância ao alumínio na população IAC-Taiúba (LIMA et alii, 1992) foram germinadas em rolo de papel de filtro umidecido com água destilada a temperatura de 30°C.

Sete dias após, as plântulas foram transferidas para bandejas de polietileno contendo solução nutritiva, cuja composição está descrita no quadro 1, em sistema de hidroponia. Para tal foram utilizadas placas de isopor como suporte às plântulas e o arejamento necessário feito com bombinhas de aquário.

Os ensaios realizados estão descritos no item 3.2.1. e foram conduzidos à temperatura de 30°-32°C, em casa de vegetação, com 8 horas de escuro e 16 horas de claro.

Todas as drogas utilizadas, como sais minerais das soluções nutritivas e reagentes para análises, tinham especificação p.a.

QUADRO 1: Composição da solução estoque e da solução nutritiva utilizada durante a execução dos ensaios.

Solução estoque			SE/SN
Número	Componente	Concentração (g/l)	(ml/l)
1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	270,00	3,10
	NH_4NO_3	33,80	
2	K_2SO_4	44,00	2,10
	KCl	18,60	
	KNO_3	24,60	
3	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	142,40	1,50
4	KH_2PO_4	17,60	0,25
5	$\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	24,90	0,30
	Na_2EDTA	29,60	
6	H_3BO_3	2,04	0,30
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,20	
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,34	
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,26	
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,88	
7	$\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	52,77	1,50

SE: Solução Estoque

SN: Solução Nutritiva

3.2. CONDUÇÃO DOS ENSAIOS

Para uma avaliação do efeito do alumínio no milho em questão, com base em determinados parâmetros bioquímicos, foram realizados quatro ensaios, os quais são descritos a seguir.

3.2.1. Ensaio com 0,0 e 4,5ppm de alumínio e colheita aos 21 dias

Plantas de milho, dos materiais TT e TS, foram crescidas em casa de vegetação utilizando-se a solução nutritiva descrita no quadro 1, com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhidas aos 21 dias. Os tratamentos foram conduzidos com 5 repetições.

Após este período, quando os sintomas de toxidez eram visíveis (segundo o descrito por FOY et alii, 1978), as plantas foram colhidas e tiveram medidos seus comprimentos de raiz e altura de plantas.

No material foliar fresco foi realizada dosagem de Redutase de Nitrato objetivando-se verificar o efeito do alumínio sobre esta para ambos cultivares.

Cerca de 10 gramas do material anteriormente colhido, raízes e folhas, foram colocados em estufa a 60°C, para estimar o teor de matéria seca.

Posteriormente, no material seco em estufa, foram realizadas análises de minerais (cálcio, potássio, magnésio, fósforo e alumínio), N-total, N-NO₃, N-NH₄.

3.2.2. Ensaio com quatro diferentes concentrações de alumínio e colheita aos 7 dias

Plântulas de milho foram crescidas em casa de vegetação utilizando-se a solução nutritiva constante no quadro 1, com quatro diferentes concentrações de alumínio: 0,0; 1,5; 4,5 e 9,0ppm (respectivamente 0,0ml/l; 0,5ml/l; 1,5ml/l e 3,0ml/l da solução estoque KAlSO₄.12H₂O 52,77g/l). Foram realizados três repetições por tratamento.

Após 7 dias de cultivo, as plântulas foram colhidas e o comprimento de raiz e altura de plantas medidos.

No material foliar fresco foram realizadas análises enzimáticas de atividade de Redutase de Nitrato, Fosfatase Ácida, e Peroxidase. Também realizou-se nas folhas a determinação do teor de prolina

Parte do material vegetal foliar colhido, foi colocado em estufa a 60°, para estimar-se o teor de matéria seca.

3.2.3. Ensaio com 0,0 e 4,5 ppm de alumínio e colheita aos 7, 14 e 21 dias.

Plantas de milho foram crescidas em casa de vegetação utilizando-se a solução nutritiva descrita no quadro 1, com 0,0 e 4,5ppm de alumínio (respectivamente 0,0ml/l e 1,5ml/l da solução estoque $\text{KAlSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 52,77g/l). Foram realizadas 3 repetições por tratamento.

Semanalmente, aos 7, 14 e 21 dias, amostras foliares eram coletadas e analisadas quanto às atividades enzimáticas de Redutase de Nitrato, Fosfatase Ácida, Peroxidase e Amina Oxidase (utilizando-se como substratos putrescina e espermidina separadamente). Também realizou-se análises de Peroxidases em raízes aos 7, 14 e 21 dias.

3.2.4. Ensaio com 0,0 e 4,5ppm de alumínio aos 2, 4 e 7 dias de germinação

Objetivando-se verificar o efeito do alumínio sobre a atividade de Peroxidase e Amina Oxidase durante a germinação, sementes de milho, cultivares Taiúba tolerante e sensível, foram colocadas para germinar em rolos de papel de filtro em contato com solução nutritiva (descrita no quadro 1) com 0,0 e 4,5 ppm de Al (respectivamente 0,0ml/l e 1,5ml/l de solução estoque $\text{KAlSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 52,77g/l). As análises de atividade de Peroxidase também foram realizadas nas radículas aos 2, 4 e 7 dias .

3.3. ANÁLISES QUÍMICAS

3.3.1. Determinação de potássio, cálcio, magnésio, fósforo e alumínio

As folhas e raízes provenientes dos ensaios constantes no item 3.2., depois de secas a 60°C por 24 horas e moídas, foram submetidas à digestão nitroperclórica (MALAVOLTA et alii.,1989) sendo o potássio determinado por fotometria de chama, cálcio e magnésio por espectrofotometria de absorção atômica e fósforo pelo método colorimétrico do vanadomolibdato (MALAVOLTA et alii.,1989).

O alumínio foi determinado, adicionando-se 1ml da amostra digerida anteriormente, em um tubo contendo 2,5ml de solução tampão acetato de sódio pH 3,8 e 1ml de xilenol orange 0,15%. Após 90 minutos em banho-maria a 40°C., adicionou-se 5ml de EDTA 0,005M e 0,5ml de água destilada. A reação processou-se durante 60 minutos, sendo a absorbância lida em espectrofotômetro a 540nm. A concentração de alumínio na amostra, dada em ppm, foi obtida graças ao auxílio de uma reta padrão.

3.3.2. Determinação do N-total

O nitrogênio total foi determinado segundo o método semi-micro-kjeldahl, com digestão sulfúrica, usando-se água oxigenada como oxidante (MALAVOLTA et alii.,1989)

3.3.3.Determinação do N-NO₃

100mg de material vegetal seco e moído (folhas e raízes) foram submetidos à extração com 40ml de água destilada a 60°C durante 30 minutos. Após filtração, tomou-se 1ml do filtrado adicionando-se 5ml de tampão NH₄Cl/NH₄OH 1M (pH8,6) em balão de 50ml e completou-se o volume com água destilada.

Filtrou-se 5ml em filtro Sep-pach (Millipore, n°.C-18) transferindo quantitativamente para coluna 5 cm x 8mm de diâmetro com 5g de cádmio, eluindo-se a um fluxo de 0,05ml por segundo. O eluído, juntamente com as lavagens da coluna com tampão NH₄Cl/NH₄OH 0,1M (pH 8,6), foram recolhidos em proveta de 10ml.

A seguir realizou-se reação colorimétrica em 5ml utilizando-se 1ml de sulfamilamida 1% em HCl 2N e 1ml de α -naftilenodiamino 0,05%. Após 5 minutos de reação, leu-se em espectrofômetro a 540nm.

A concentração de NO₃ reduzido a NO₂ foi obtida via reta padrão de nitrito.

3.3.4.Determinação de N-NH₄⁺

100mg de material vegetal seco e moído, foram destilados com arraste de vapor com 5ml de NaOH 45%, sendo o destilado recolhido em

5ml de HCl 0,1M, até 25 ml medidos em proveta. A seguir, a concentração de amônia foi determinada segundo metodologia descrita por FAWCETT & SCOTT (1960). Aliquotas de 1ml do destilado eram tratados com 2ml de fenato de sódio, 3ml de nitroferriicianeto de sódio 0,01% e 3ml de hipoclorito de sódio 0,02N. Após agitação os tubos permaneciam no escuro durante 15 minutos e as leituras de densidade ótica eram realizadas em espectrofotômetro a 680nm.

3.3.5.Determinação de prolina

A concentração de prolina foi determinada segundo a metodologia descrita por BATES (1973). Cerca de 1 grama de material vegetal era submetido a extração utilizando-se 10ml de ácido sulfossalicílico 3%. A seguir, alíquotas de 2ml eram tratadas com 2ml ninhidrina ácida e 2ml de ácido acético e deixadas a 100°C durante 60 minutos, sendo a reação paralizada com banho de gelo. A seguir adicionou-se 4ml de tolueno e agitou-se durante 30 segundos, sendo a concentração de prolina determinada por espectrofotometria a 510nm na fase etérea.

3.3.6.Determinação da atividade da Redutase do Nitrato

200mg de discos foliares com 5mm de diâmetro foram encubados *in vivo* com 5ml de KNO₃ 0,2M em tampão PO₄ 0,05M (pH 7,4) com 1% de Triton x-100, a 37°C por uma hora no escuro.

Após este período, adicionou-se 1ml de sulfanilamida em HCl 2N, para paralizar a reação, e 1ml de α -naftilenodiamino 0,05%. Após 5 minutos de reação, procedeu-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540nm.

A atividade da enzima foi obtida via reta padrão de NO₂ e os valores expressos em micromoles de nitrato reduzido por hora por grama de tecido foliar.

3.3.7.Determinação da atividade da Fosfatase Ácida

A atividade da fosfatase ácida foi determinada segundo BASSO & SILVA (1992).

3.3.8.Determinação de Peroxidases

A atividade da peroxidase foi determinada segundo LUSSO (1989) com algumas modificações.

Folhas e raízes foram submetidas à extração com tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 6,1 (10ml/grama de tecido fresco) pela trituração em almofariz contendo areia fina. O homogenizado obtido foi centrifugado a 5000G durante 5 minutos e constituiu-se no extrato enzimático. Todo procedimento foi realizado a temperaturas próximas de 4°C.

A mistura reativa se constituiu de 0,5ml de água oxigenada 0,1M; 1ml de pirogalol 0,02M; 0,2ml de extrato enzimático e 4,3ml de tampão fosfato de sódio 0,1M pH6,1. Com a adição da água oxigenada era iniciada a contagem de tempo acompanhando-se a variação de absorbância em espectrofotômetro a 470nm, de 15 em 15 segundos, até completados 3 minutos. A reação processou-se a temperatura ambiente.

Como controle substitui-se a água oxigenada por solução tampão de fosfato de sódio 0,1M (pH 6,1).

3.3.9.Determinação da atividade de Amina Oxidase

A determinação de atividade de Amina Oxidase foi realizada com base na formação de μ gramas de amônia por grama de matéria fresca, segundo GUTIERREZ et alii (1990), utilizando-se como substratos a putrescina e a espermidina separadamente.

3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os ensaios descritos no item 3.2. foram conduzidos de maneira inteiramente casualizada utilizando-se o mesmo número de repetições por tratamento(5 repetições para o ensaio descrito no item 3.2.1. e 3 repetições para os demais). Utilizou-se para efeito de estudo, comparação de médias pelo teste de Tuckey ao nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito do alumínio no teor de matéria seca

O efeito da toxidez de alumínio sobre a umidade em folhas e raízes foram estudadas em milho e os dados estão dispostos nas tabelas 01 e 02, do apêndice, as quais correspondem às figuras 1a, 1b e 2, respectivamente.

Tanto em folhas de plantas tolerantes(TT)quando em sensíveis(TS) observa-se um aumento de materia seca, conforme já observado na literatura por ROY et alii (1988), sendo no entanto não significativo em plantas sob 0 e 4,5 ppm de Al colhido ao vinte e um dias.

Verifica-se um aumento no teor de matéria seca das folhas de ambas cultivares quando são utilizadas várias concentrações de Al (figura 02), sendo significativas as diferenças obtidas com o material sensível.

No tocante ao efeito do alumínio no teor de umidade da raiz fica evidente que tanto o material sensível quanto o tolerante não apresentam diferenças quando estressadas com 4,5 ppm de Al ao término de vinte e um dias (figura 01b). No entanto o incremento de matéria seca no material sensível é mais acentuado que no tolerante.

Figura 1a: Teor de matéria seca em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhidas aos 21 dias.

Figura 1b: Teor de matéria seca em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhida aos 21 dias.

Figura 2: Teor de umidade em folhas de plantas de milho Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em quatro diferentes concentrações de Al e colhidas aos 7 dias

4.2. Efeito do alumínio na altura de planta e comprimento de raiz

Os dados constantes nas tabelas 03 e 04 do apêndice, os quais correspondem às figuras 3a,3b, 4a e 4b, mostram claramente que o Al possui um efeito deletério sobre o crescimento de plantas conforme descrito por FOY et alii.(1978) e ROY et alii.(1988).

A análise da figura 03a demonstra que plantas não estressadas não apresentam entre si diferenças no tocante ao comprimento da raiz e altura de planta, sejam elas originadas de material sensível ou tolerante à Al. No entanto quando estressadas por este elemento, plantas de material sensível

tendem a ter menor desenvolvimento em relação ao tolerante.

Este efeito deletério diferencial do Al confirma-se quando as plantas são expostas a 4 diferentes concentrações do íon. Pela figura 04a observa-se que plântulas com sete dias já manifestam alterações na característica altura de planta, sendo estas alterações significativas apenas em plantas do material sensível.

Observa-se pela análise da figura 04b, que doses crescentes de alumínio induzem menores crescimentos de raiz em um mesmo tempo. Isto provavelmente pode estar associado ao fato do alumínio ligar-se à superfície da raiz e a paredes celulares (CLARKSON, 1967).

Figura 3a: Altura de planta de milho Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas com 0,0 e 4,5 ppm de AL e colhido aos 21 dias.

Figura 3b: Comprimento de raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas com 0,0 e 4,5ppm de alumínio e colhidas aos 21 dias.

Figura 4a: Altura de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT), cultivadas em 4 concentrações de Al e colhida aos 7 dias.

Figura 4b: Comprimento de raízes de plantas de milho Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em 4 concentrações de Al e colhidas aos 7 dias.

4.3. Efeito do alumínio na composição mineral

O efeito do alumínio na composição mineral em folhas e raízes de milho foi estudado para material estressado com duas concentrações de Al (0,0 e 4,5ppm) e colhido aos 21 dias. Os dados referentes estão dispostos nas tabelas 5(folhas) a 6(raízes) do apêndice e correspondem as figuras 5a,5b,5c,5d,5e,5f e 6a,6b,6c,6d,6e,6f, respectivamente.

Pela análise das figura 5a observa-se que em folhas de plantas

estressadas o teor de fósforo aumentou, sendo no entanto significativo apenas para plantas sensíveis. Estes resultados aparentemente contrariam dados de literatura (ALAM, 1983). No entanto dados obtidos por FLOSS (1992) em plantas de aveia estressadas com 7,5ppm de Al em sistema de hidroponia, confirmam os resultados obtidos neste experimento. Provavelmente este aparente aumento do teor de fósforo em folhas esteja relacionado com uma diminuição do crescimento da planta, e conseqüente efeito de concentração do elemento. Os resultados aqui obtidos quando comparados com os constantes na literatura (FOY et alii.,1978; ROY et alii.,1988; FAGERIA et alii., 1989)sugerem que a interferência do alumínio ocorre na absorção do fósforo, sendo a concentração final encontrada em folhas conseqüência do efeito da redução do crescimento em determinado período de tempo.

Analisando-se a figura 5b, referente ao efeito do alumínio no teor de fósforo em raízes de milho constata-se que na presença de Al, tanto plantas do material sensível quanto do tolerante há um aumento significativo do teor de fósforo nas raízes(tabela5). Este aumento pode ser explicado pelo fato do alumínio ligar-se à superfície da raiz e paredes celulares (CLARKSON, 1967)interagindo com fosfatos aí presentes (FOY, 1978)e pelo efeito de concentração do elemento, conforme discutido anteriormente.

Figura 5a: Efeito do alumínio no teor de fósforo em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com duas concentrações de Al e colhidas aos 21 dias.

Figura 6a: Efeito do alumínio no teor de fósforo em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com duas concentrações de Al e colhidas ao 21 dias.

Com relação ao teor de alumínio absorvido pela planta constata-se pela análise das figuras 5b e 6b (tabelas 5 e 6 do apêndice) que o elemento foi pouco translocado para a parte aérea, conforme descrito por RASMUSSEM (1968), acumulando-se nas raízes, possivelmente ligado à sua superfície e paredes celulares (CLARKSON, 1967). Pela análise da figura 5b, constata-se que folhas de plantas dos materiais sensível e tolerante quando estressadas não apresentam diferenças significativas quanto ao acúmulo de alumínio além de apresentarem teores insignificantes em relação as raízes. Estes dados concordam com o proposto por FOY et alii(1978) e BALAKUMAR et alii(1992) para os quais, o acúmulo de alumínio em folhas não seria um bom parâmetro para diferenciar materiais tolerantes de sensíveis.

Figura 5b: Efeito do alumínio no acúmulo de Al em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al, durante 21 dias.

Figura 6b: Efeito do alumínio no teor de Al em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

Pela análise das figuras 5c e 6c (tabelas 5 e 6 do apêndice) constata-se que o alumínio promoveu um aumento no teor de potássio em folhas e raízes de plantas sensíveis e tolerantes. Este aumento aparentemente contraditório com relação aos encontrados por ALAN (1983), MOUSTAKAS (1992) e descritos na literatura (FOY et alii, 1978), concordam com os encontrados por CANAL & MIELNICZUK (1983) em milho e devem ser oriundos do efeito de concentração do elemento devido a redução nos crescimentos foliares e radiculares. Soma-se a isto, o fato de que não existem na literatura dados consistentes sobre os efeitos do alumínio nos teores de cátions monovalentes (RENGEL, 1992).

Figura 5c: Efeito do alumínio no teor de potássio (expresso em g/100g.ms.) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

Figura 6c: Efeito do alumínio no teor de potássio (expresso em g/100g.ms.) em raízes de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

A influência do alumínio nos teores de cátions bivalentes, cálcio e magnésio, podem ser vistos nas figuras 5d,6d,5e e 6e (tabelas 5 e 6, no apêndice).

O alumínio diminuiu o teor de magnésio em folhas (figura 5d) e raízes (figura 6d) tanto no material sensível quanto no tolerante. No entanto, não houve diferença significativa para ambos os cultivares estressados quando comparados aos não estressados.

Com relação ao teor de cálcio o alumínio promoveu uma queda neste, tanto em folhas (figura 5e) quanto em raízes (figura 6e) de ambos cultivares. Em folhas esta queda é muito mais acentuada e significativa que no tolerante, confirmando dados constantes na literatura (HUANG et alii, 1992). Em raízes a queda ocorrida na presença de alumínio foi significativa tanto para a cultivar tolerante quanto para a cultivar sensível.

É necessário considerar-se que o efeito de concentração, já discutido anteriormente para fósforo e potássio, também deve estar ocorrendo para o cálcio e o magnésio. Sendo assim, os teores destes elementos, quando considerados por planta, devem ser muito menores que os apresentados aqui.

Figura 5d: Efeito do alumínio no teor de magnésio (expresso em g/100g.matéria seca) em folhas de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

Figura 6d: Efeito do alumínio no teor de magnésio(expresso em g/100g.matéria seca) em raízes de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

Figura 5e: Efeito do alumínio no teor de cálcio (expresso em g/100g.matéria seca) em folhas de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e TAIúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

Figura 6e: Efeito do alumínio no teor de cálcio (expresso em g/100g.matéria seca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

O efeito do alumínio no teor de N-total em folhas e raízes de milho estão apresentadas nas figuras 5f e 6f (tabelas 5 e 6, no apêndice) respectivamente.

O alumínio reduziu os teores de N-total nas folhas dos dois cultivares, mas a redução foi mais intensa e significativa na cultivar sensível (figura 5f). Esta redução no teor de N-total foliar em presença de alumínio é confirmada na literatura em plantas de soja não nodulantes por RITCHEY & CARTER (1993).

Já nas raízes o aumento nos teores do N-total do cultivar sensível pode ser interpretado como um efeito da concentração do elemento (N), visto ocorrer drástica redução do crescimento das raízes (Tabela 3, no apêndice).

Figura 5f: Efeito do alumínio no teor de N-total (expresso em g/100g.matéria seca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

Figura 6f: Efeito do alumínio no teor de N-total(expresso em g/100g.matéria seca) em raízes de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

4.4. Efeito do alumínio na atividade de Redutase de Nitrato

O efeito da toxidez por Al na Redutase de Nitrato de folhas foi estudado para o milho, e os dados encontram-se nas tabelas 07, 08 e 09 (do apêndice), que correspondem respectivamente às figuras 7,8 e 9.

A Redutase de Nitrato sofreu uma redução em sua atividade aos 7 dias na presença de alumínio em ambos os cultivares,mas o efeito é mais

drástico na cultivar sensível. Esta redução na atividade de Redutase de Nitrato (FOY & FLEMING, 1982; SANTORO et alii, 1984; CAMBRAIA, 1989; BALAKUMAR et alii, 1992) mostrou-se tanto mais intensa quanto maiores os teores de alumínio na solução nutritiva (figura 9), sendo significativas as diferenças encontradas.

Esta queda de atividade da enzima quando sob estresse de alumínio pode ser devido à menor absorção de nitrato nestas condições (CAMBRAIA et alii, 1989 ; KELTJENS & van ULDEN, 1987), o que verifica-se no presente trabalho aos 21 dias (Figura 10; tabela 10 do apêndice).

Aos 7 dias a atividade de Redutase de Nitrato é elevada, contudo cai gradativamente até 21 dias, quando então são minimizadas as diferenças entre os cultivares sensível e tolerantes e quanto a presença do alumínio. É possível que esta redução na atividade da enzima com a idade da planta, esteja relacionada com uma possível diminuição na absorção de nitrato.

É preciso contudo considerar-se que o aumento não significativo observado aos 21 dias de cultivo (figuras 7 e 8) pode estar relacionado ao efeito de concentração devido a redução no crescimento de plantas estressadas.

Figura 7: Efeito do alumínio na atividade de Redutase de Nitrato (expressa em $\mu\text{M NO}_2/\text{g.matéria fresca/hora}$) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS), cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm Al, e colhido aos 21 dias.

Figura 8: Efeito do alumínio sobre a atividade de Redutase de Nitrato em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al medido aos 7, 14 e 21 dias.

Figura 9: Efeito de quatro diferentes concentrações de alumínio (0,0; 1,5; 4,5 e 9,0 ppm de Al) na atividade de Redutase de Nitrato de folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) medida aos 7 dias de cultivo.

4.4. Efeito do alumínio nos teores de N-NO₃ e N-NH₄

O efeito da toxidez de alumínio sobre o acúmulo de nitrato e amônia em folhas e raízes de milho estão dispostos nas tabelas 10 e 11, no apêndice, as quais correspondem, respectivamente, às figuras 10a, 10b, 11a e 11b.

A análise das figuras 10a e 10b, demonstram que em situações de estresse por 4,5 ppm de alumínio, tanto a cultivar tolerante quanto a sensível apresentaram menores teores de nitrato em folhas e raízes, sendo entretanto significativa esta diferença apenas no material sensível.

Consequentemente o baixo teor de amônia em folhas do cultivar sensível em presença do alumínio, (figura 11a), pode ser atribuído a menor absorção de nitrato (figura 10a e 10b) e menor intensidade de sua redução enzimática (figura 9; tabela 9 do apêndice).

Em raízes o aumento significativo no teor de NH_4 observado para a cultivar sensível, pode não estar refletindo a realidade, pois devido ao drástico efeito do alumínio no crescimento das mesmas, pode estar ocorrendo efeito de concentração do íon amônio.

Figura 10a: Efeito do alumínio no teor de nitrato (expresso em $\mu\text{M NO}_3/\text{g}$, matéria seca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

Figural0b:Efeito do alumínio no teor de nitrato(expresso em $\mu\text{M NO}_3/\text{g.matéria seca}$) em raízes de plantas de milho(Taiúba SEnsível-TS e TAIúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al e colhido aos 21 dias.

Figural1a:Efeito do alumínio no teor de NH_4^+ (expresso em $\text{mgNH}_4^+/\text{g.matéria seca}$) em folhas de plantas de milho(TAIúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

Figura 11b: Efeito do alumínio no teor de NH_4^+ (expresso em mgNH_4^+/g .matéria seca) em raízes de plantas de milho (TAiúba Sensível-TS e taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

4.5. Efeito do alumínio na atividade da Fosfatase Ácida

Os resultados obtidos da toxidez por alumínio sobre a fosfatase ácida foliar estão contidos nas tabelas 12 e 13 do apêndice, e correspondem as figuras 12 e 13 respectivamente.

A Fosfatase Ácida não se alterou e não mostrou uma tendência definida (figuras 12 e 13), inclusive como já observado na literatura (CALBO, 1978). Tais constatações podem ser atribuídas ao duplo efeito do

alumínio sobre a Fosfatase:

1. O alumínio promove indução da deficiência de fósforo com incremento na atividade enzimática;
2. O alumínio possui uma ação inibitória sobre a Fosfatase, fato já observado em leveduras (BASSO, L.C¹).

A análise da figura 13 confirma os resultados obtidos com diferentes concentrações de Al e demonstra ainda que a atividade da Fosfatase Ácida tende a aumentar com o passar do tempo, estando este aumento provavelmente relacionado com os baixos teores de fósforo utilizando na solução nutritiva e o consequente esgotamento deste elemento com o desenvolvimento da planta.

Tabela 12: Efeito de quatro diferentes concentrações de alumínio na atividade de Fosfatase Ácida (expressa em μM N-P/g.matéria fresca/60segundos) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) medido aos 7 dias

¹. BASSO, L.C. (ESALQ-USP, Piracicaba) Comunicação pessoal, 1994.

Figura 13: Efeito do alumínio sobre a atividade da Fosfatase Ácida (expressa em μM para-nitrofenol/g.matéria fresca/60 segundos) em folhas de plantas de milho (taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al medida aos 7, 14 e 21 dias.

4.6. Efeito do alumínio no teor de prolina

A influência do alumínio no teor de prolina em milho foi estudada para raízes e folhas e os dados estão dispostos na tabela 14 do apêndice, a qual corresponde a figura 14.

O teor de prolina aumentou nas folhas com o aumento do estresse, sendo este significativo para a cultivar sensível. Quando comparado com a tabela 2, do apêndice, verifica-se que o aumento do teor de prolina correlaciona-se de maneira direta com o aumento do teor de matéria seca, conforme observações de VENEKAMP & KOOT, 1988).

Figura 14: Efeito de diferentes concentrações de alumínio no teor de prolina (expressa em nM prolina/g.matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) colhidas aos 7 dias.

4.7. Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidases

O efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase durante a germinação de milho foi estudada e os dados constam nas tabelas 15 e 16, do apêndice, as quais correspondem as figuras 15 e 16 respectivamente.

A diamina oxidase esteve presente apenas no início da germinação e ausente aos 7 dias, conforme descrito por KENTEN & MANN (1952). O efeito do alumínio foi maior para o cultivar sensível para a qual ocorreu drástica redução de sua atividade (figura 15)

Pela figura 16 é possível visualizar a atividade de poliamina oxidase, a qual perdurou até os 7 dias, confirmando observações da literatura (TORRIGIANI et alii, 1988). A atividade foi maior para a cultivar sensível para a qual o efeito do alumínio foi drástico na redução de sua atividade.

O efeito do alumínio na atividade de amina oxidase em folhas foi estudada, utilizando-se putrescina (figura 17) e espermidina (figura 18) como substratos a enzima, e constatou-se que conforme dados de literatura (KENTEN & MANN, 1952 e HIRASAWA & SUZUKI, 1975) não encontrou-se atividade de amina oxidase quando não estressadas. A atividade enzimática, embora baixa, foi detectada em plantas sob estresse do alumínio, aos 7 dias apenas em folhas de plantas sensíveis e aos 14 em folhas de plantas tolerantes.

Figura 15: Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase (expresso em $\mu\text{g NH}_4^+/\text{g.matéria fresca}/30\text{segundos}$) em radícula de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) germinado na presença de solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al medida aos 2, 4 e 7 dias, utilizando putrescina como substrato para a enzima.

Figura 16: Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase(expressa em $\mu\text{gNH}_4^+/\text{g.matéria fresca}/30\text{segundos}$)em radícula de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT)germinado em presença de solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al medido as 2,4 e 7 dias, utilizando espermidina como substrato para a enzima.

Figura 17: Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase(expressa em $\mu\text{g NH}_4^+/\text{g.matéria fresca}/30\text{segundos}$)em folhas de plantas de milho(Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT)cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e medida aos 7, 14 e 21 dias, utilizando-se putrescina como substrato a enzima.

Figura 18: Efeito do alumínio na atividade de Amina Oxidase (expressa em $\mu\text{g NH}_4^+/\text{g.matéria fresca}/30\text{segundos}$) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e medida aos 7, 14 e 21 dias, utilizando-se espermidina como substrato a enzima.

4.8. Efeito do alumínio na atividade de peroxidase

O efeito da toxidez de alumínio sobre a atividade de peroxidase em folhas e raízes foi analisada e os dados estão dispostos nas figuras 19 a seguir.

Tanto o cultivar sensível quanto o tolerante apresentaram aumento de atividade de peroxidase em radículas de milho em germinação quando estressados pelo alumínio. No entanto maiores atividades foram detectadas para a sensível aos 2, 4 e 7 dias

Figura 19: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase de radícula de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS), medidas em μM Pirogalol/grama de matéria fresca/segundos, aos 2, 4 e 7 dias de germinação.

A Peroxidase foliar sofreu um aumento de atividade na cultivar sensível tanto mais intenso quanto maiores os teores de alumínio na solução nutritiva (Figura 20). Em folhas de plantas tolerantes a atividade de Peroxidase não apresentou uma tendência definida, quando em presença de diferentes concentrações do íon.

Em raízes a peroxidase em ambas as cultivares apresentou incremento na atividade tanto mais intensa quanto maiores os teores de alumínio na solução nutritiva (figura 21). Maiores atividades foram encontradas na cultivar tolerante, mesmo quando não estressadas.

Figura 20: Efeito do alumínio em 4 diferentes concentrações na atividade de peroxidase (medida em μM Pirogalol/g.matéria fresca/segundos) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva e analisadas aos 7 dias.

Figura 21: Efeito do alumínio em 4 diferentes concentrações na atividade de Peroxidase (expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca/segundo) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva e analisadas aos 7 dias.

A peroxidase foliar apresentou um aumento em sua atividade aos 7 dias na presença de alumínio para ambos os cultivares, contudo o efeito foi maior em plantas sensíveis (figura 22). É interessante constatar que o alumínio induziu a presença de atividade de Amina Oxidase foliar aos 7 dias (figuras 17 e 18) podendo estar ambas enzimas relacionadas entre si, conforme proposto na literatura (FREDERICO & ANGELINI, 1988)

Este aumento na atividade causado pelo alumínio, cai gradativamente até os 21 dias, quando são minimizados as diferenças entre os cultivares sensível e o tolerante e quanto a presença do íon (figuras 22, 24 e 26).

Peroxidases da raiz apresentaram aumento na atividade quando estressadas por alumínio aos 7 dias (figura 23), sendo este efeito maior em plantas tolerantes. Este aumento diferencial observado em tolerantes, apesar de confirmar os resultados obtidos com diferentes concentrações de alumínio (figura 20), contraria o constante na literatura para plantas de sorgo na presença do íon (GONÇALVES et alii, 1993) para a qual o incremento na atividade foi apenas notado em plantas sensíveis.

Da mesma forma que para a peroxidase foliar, este incremento na atividade causado pelo alumínio, cai gradativamente até 21 dias, quando são então minimizadas as diferenças entre as cultivares sensível e tolerante e quanto a presença do íon (figuras 23, 25 e 27).

Figura 22: Efeito do alumínio na atividade de peroxidase (expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al analisadas aos 7 dias.

Figura 23: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 7 dias.

Figura 24: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase(expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca)em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 14 dias.

Figura 25: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase(expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca)em raízes de plantas de milho(Taiúba Tolerante-TT e Taiúba Sensível-TS) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 14 dias.

Figura 26: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca) em folhas de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 21 dias.

Figura 27: Efeito do alumínio na atividade de Peroxidase (expressa em μM Pirogalol/g.matéria fresca) em raízes de plantas de milho (Taiúba Sensível-TS e Taiúba Tolerante-TT) cultivadas em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al e analisadas aos 21 dias.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições em que foi realizado este trabalho, permitem as seguintes conclusões:

- variações na concentração e tempo de exposição ao alumínio afetam diferentemente o crescimento e desenvolvimento vegetal;
- o acúmulo de matéria seca, em especial em plantas sensíveis, está diretamente relacionado com a concentração e tempo de exposição ao alumínio;
- plantas sensíveis ao alumínio apresentam quando estressadas maiores alterações na composição mineral quando comparadas às tolerantes;
- variações na concentração de alumínio inibem de forma diferenciada a Redutase de Nitrato sendo que na cultivar tolerante foram observadas atividades superiores à sensível quando estressadas;
- folhas de plantas sensíveis, quando estressadas apresentam menores teores de amônia devido ao menor teor de nitrato e menor atividade de Redutase de Nitrato.

- folhas de plantas sensíveis quando estressadas com alumínio apresentam atividade de Amina Oxidase o que não ocorre em folhas de plantas não estressadas;
- o alumínio aumenta atividade de Peroxidase em sementes em germinação, notadamente em cultivares sensíveis;
- a atividade de Peroxidase em folhas de plantas sensíveis é estimulada na presença de alumínio, podendo esta estar associada ao aparecimento de atividade de Amina Oxidase nestas circunstâncias;
- A atividade de Fosfatase Ácida não é um parâmetro para distinguir-se plantas sensíveis e tolerantes ao alumínio, pois não apresenta tendência definida sob estresse.
- variações na concentração de alumínio promovem aumento no acúmulo de prolina em folhas de plantas sensíveis, provavelmente em resposta ao estresse;
- raízes de plantas tolerantes apresentaram aumento da atividade de Peroxidase quando em presença de alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADIGA, P.R. & PRASAD, G.L. Biosynthesis and regulation of polyamines in higher plants. *Plant Growth Regulation*, Dordrecht, 3:205-226, 1985.
- ALAM, S.M. Effect of aluminium on the dry matter and mineral content of rice. *Journal Science Tecnology*, Peshawar, 7(1/2):1-3, 1983.
- BACCHRACH, U. Metabolism and function of spermine and related polyamines. *Annual Review Microbiology*, Palo Alto, 24:110-133, 1970.
- BALAKUMAR, T.; SIVAGURU, M.; JAMES, M.R. & ANBUDURAI, P.R. Impact of aluminium toxicity on growth and efficiency of nutrient metabolism in some tropical rice cultivars. *Tropical Agriculture*, Surrey, 69(3):211-216, 1992.
- BASSO, L.C. & SILVA, F.C. Avaliação da atividade *in vivo* da fosfatase ácida da folha na diagnose da nutrição fosfórica em cana-de-açúcar (*Saccharum spp*). In: XX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas,

Piracicaba, 1992. *Anais*. Piracicaba, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.152-153.

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, Dordrecht, 39:205-207, 1973.

BEN ZIONI, A.; VAADIA, Y. & HERMAN LIPS, S. Nitrate uptake by roots as regulated by nitrate reduction products of the shoot. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 24:288-290, 1971.

CALBO, A.G. Efeito do alumínio sobre a absorção, transporte e a distribuição de alguns elementos minerais, em dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*, L.Moench). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 43p., 1978.

CAMBRAIA, J. Mecanismos de tolerância a toxidez de alumínio em plantas. In: Reunião Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2, Piracicaba, 1989. *Anais*. Piracicaba, SBFV/ESALQ, 1989, p.85-92.

CAMBRAIA, J.; PIMENTA, J.A.; ESTEVÃO, M.M. & SANT'ANA, R. Aluminium effects on nitrate uptake and reductions in sorghum. *Journal of Plant Nutrition*, New York, 12(12)::1435-1445, 1989.

- CANAL, I.N. & MIELNICZUCK, J. Potassium absorption parameters in corn plants (*Zea mays*) as affected by aluminium-calcium interaction. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 35(3):336-340, 1983.
- CLARK, R.B. Effect of aluminium on growth and mineral elements of Al-tolerant and Al-intolerant corn. *Plant and Soil*, Dordrecht, 47: 653-662, 1977.
- CLARK, R.B. & BROWN, J.C. Differential phosphorus uptake by phosphorus-stressed maize imbeds. *Crop Science*, Madison, 14:505-508, 1974.
- CUNHA, F.E. Pesquisa de mecanismos de tolerância a toxidez de Al em milho. 2. Produção de matéria seca de linhagens cultivadas em solução nutritiva em função da fonte de nitrogênio. In: Anais XIII Reunião Brasileira de Milho e Sorgo, Londrina, 1980. 114p.
- EVANS, P.T. & MALMBERG, R. Do polyamines have roles in plants development? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, 40:235-269, 1989.
- FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C. & WRIGHT, R.J. The effects of aluminium on growth and uptake of Al and P by rice. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 24(6):677-682, 1989.

- FAGERIA, N.K. & ZIMMERMANN, F.J.P. Seleção de cultivares de arroz para tolerância a toxidez do alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 14:141-147, 1979.
- FAWCETT, J.K. & SCOTT, J.E. A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, London, 13: 156-159, 1960.
- FLEMING, A.L. Ammonium uptake by wheat varieties differing in Al-tolerance. *Agronomy Journal*, Madison, 75:726-730, 1983.
- FLORES, H.E. Changes in polyamine metabolism in response to abiotic stress. IN: *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. First Edition. United States, Robert D. Slocum & Hector Flores editors, 1991. Chapter 15, 213-228.
- FRIEDMAN, R.; ALTMAN, A. & LEVIN, N. The effect of stress on polyamine biosynthesis and content in mung bean plants and in halophytes. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, 76:295-302, 1989.
- FLOSS, E.L. Avaliação da Toxicidade do alumínio em genótipos de aveia. Piracicaba, 1992. 296p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

FOY, C.D. Differential aluminium and manganese tolerance of plant species and varieties in acid soils. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 28 (2): 150-155, 1976.

FOY, C.D.; CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review Plant Physiology*, Palo Alto, 29:511-566, 1978.

FOY, C.D. & FLEMING, A.L. Aluminium tolerances of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. *Journal Plant Physiology*, Stuttgart, 5: 1313-1333, 1982.

FREDERICO, R. & ANGELINI, R. Distribution of polyamines and their related catabolic enzymes in etiolated and light-grown leguminosae seedlings. *Planta*, Berlin, 173:317-321, 1988.

FREDERICO, R. & ANGELINI, R. Polyamine catabolism in plants. In: *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. First Edition. United States, Robert D. Slocum & Hector Flores editors, 1991. Chapter 3, p.41-56.

FURLANI, P.R. Efeitos fisiológicos do alumínio em plantas. In. *Simpósio Avançado de Solos e Nutrição de Plantas*, 2, Piracicaba, 1989. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1989. p.73-90.

- FURLANI, P.R. & CLARK, R.B. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solutions. *Agronomy Journal*, Madison, 73:587-594, 1981.
- GALSTON, A.W. Polyamines as modulators of plant development. *Bioscience*, Washington, 33(6):382-387, 1983.
- GALSTON, A.W. & SAWHNEY, R.K. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiology*, Rock Ville, 94:406-410, 1990.
- GALVEZ, L. & CLARK, R.B. Nitrate and ammonium uptake and solution pH changes for Al-tolerant and Al-sensitive sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes grown with and without aluminium. *Plant and Soil*, Dordrecht, 134: 179-188, 1991.
- GOMES, M.M.S.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R. & ESTEVÃO, M.M. Aluminium effects on uptake and translocation of nitrogen in sorghum (*Sorghum bicolor* L.Moench). *Journal Plant Nutrition*, New York, 8(6):457-465, 1985.
- GONÇALVES, J.F.C.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R. & PACHECO, S. Efeito da interação de Al x Zn sobre os teores de Zn, Al e efeito da atividade de Peroxidase em sorgo. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Brasília, 5(1):69, 1993.

- GUTIERREZ, L.E.; BASSO, L.C.; BOARETO, H. & ZAIA, P.F. Amina oxidase em plantas.I.Método para determinar a atividade. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 45(1-2):21-24, 1980.
- HIRASAWA, E. & SUZUKI, Y. Purification and properties of a polyamine oxidase from *Zea mays*. *Phytochemistry*, Oxford, 14:99-101, 1975.
- HUANG, J.W.; SHAFF, J.E.; GRUNES, D.L. & KOCHIAN, L.V. Aluminium effects on calcium fluxes of the root apex of aluminium-tolerant and aluminium-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiology*, Rock Ville, 98:230-237, 1992.
- IBARRA-CABALERO, J.; VILLANUEVA-VERDUZCO, C; MOLINA-GALAN, J. & SANCHEZ-DE-JIMENEZ, E. Proline accumulation as a symptom of drought stress in maize: a tissue differentiation requeriment. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 39(204):889-897, 1988.
- KELTJENS, W.G. & van ULDEN, P.R. Effects of nitrogen (NH_4/NO_3) uptake, nitrate reductase activity and proton release in two sorghum cultivars differing in Al tolerance. *Plant and Soil*, Dordrecht, 104: 227-234, 1987.
- KEZHENG, T. & KELTJENS, E.G. Interactions between aluminium and phosphorus in sorghum plants. *Plant and Soil*, Dordrecht, 124:15-23, 1990.

KENTEN, R.H. & MANN, P.J.G. The oxidation of amines by extracts of Pea seedlings. *Biochemical Journal*, Essex, 50:360-369, 1952.

KLIMASHEVSKY, E.L. & CHERNYSHEVA Content of organic acids and physiologically active compounds in plants differing in their susceptibility to the toxicity of Al^{3+} . IN: Plant Breeding Abstracts, Oxon, 50:7005, 1980.

KUZNETSOV, V.V.; KHYDYROV, B.T.; SHEVTAKOVA, N.I. & RAKITIN, V.Y. Heat shock induction of salt tolerance in cotton: involvement of polyamines, ethylene and proline. *Soviet Plant Physiol.*, New York, 38(6):877-883, 1991.

LIMA, M.; FURLANI, P.R. & MIRANDA FILHO, J.B. Divergent selection for aluminium tolerance in a maize (*Zea mays* L.) population. *Maydica*, 37:123-132, 1992.

LUSSO, M.F.G Alterações na atividade e no perfil eletroforético da enzima peroxidase em mesocótilos e folhas de milho (*Zea mays*) em resposta à inoculação com *Helminthosporium maydis* Nisik. & Miy., raça 0, *Helminthosporium carbonum* Ullstrup, raça 1 e à injúria mecânica. Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luís deQueirós" da Universidade de São Paulo. Piracicaba. 109 p., 1989.

- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas, Princípios e Aplicações. Piracicaba, Associação Brasileira para pesquisa da Potassa e do Fósforo, Piracicaba, 1989. 201p.
- MINOCHA, R.; MINOCHA, S.C.; LONG, S.L. & SHORTLE, W.C. Effects of aluminium on DNA synthesis, cellular polyamines, polyamine biosynthetic enzymes and inorganic ions in cell suspension cultures of a woody plant, *Catharanthus roseus*. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 85:417-424, 1992.
- MIYASAKA, S.C.; KOCHIAN, L.V.; SHAFF, J.E. & FOY, C.D. Mechanisms of aluminium tolerance in wheat: An investigation genotypic differences in rhizosphere pH, K and H transport and Root-cell membrane potentials. *Plant Physiology*, Rock Ville, 91:1188-1196, 1989.
- MOUSTAKAS, M.; YUPSANIS, T.; SYMEONIDIS, L. & KARATAGLIS, S. Aluminium toxicity effects on durum wheat cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, New York, 15(5):627-638, 1992.
- NAIK, B. & SCRIVASTAVA, S.K. Effects of polyamines on tissue permeability. *Biochemistry*, Washington, 17:1885-1887, 1978.

- NICHOL, B.E.; OLIVEIRA, L.A; GLASS, A.D.M & SIDDIQI, M.Y. The effects of aluminium on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate and phosphate in an Aluminum-sensitive cultivar of Barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Physiology*, Rock Ville, 101:1263-1266, 1993.
- NITSOS, R.S. & EVANS, H.J. Effects of univalent cations on the inductive formation of nitrate reductase. *Plant Physiology*, Rock Ville, 41:1499-1504, 1966.
- OLMOS, I.L. & CAMARGO, M.N. Ocorrência de alumínio tóxico nos solos do Brasil: sua caracterização de distribuição. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 28:171-180, 1976.
- RABE, E. Stress physiology: the functional significance of the accumulation of nitrogen-containing compounds. *Journal Horticultural Science*, Kent, 65(3):231-243, 1990.
- RENGEL, Z. Role of calcium in aluminium toxicity. *New Phytologist*, 121: 499-513, 1992.
- RAMSMUSSEN, H.P. The mode of entry and distribution of aluminium in *Zea mays*: electron microprobe x-ray analysis. *Planta*, Berlin, 81: 28-37, 1968.

ROY, A.K.; SHARMA, A. & TALUKDER, G. Some aspects of aluminium toxicity in plants. *Botanical Review*, New York, 54(2):145-177, 1988.

RITCHEY, K.D. & CARTER JR, T.E. Emergence and growth of non-nodulated soybean genotypes (*Glycine max* (L.) Merr.) in response to soil acidity. *Plant and Soil*, Dordrecht, 151:175-183, 1993.

RYAN, P.R.; DITOMASO, J.M. & KOCHIAN, L.V. Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 44(259):437-446, 1993.

SANTORO, L.C.; SOARES, T.E. & MAGALHÃES, A.C. Effects of aluminium on nitrate reduction in *Zea mays* L. *Phyton*, Vicent Lopes, 44:75-80, 1984.

SLOCUM, C.D.; KAUR-SAWHENEY, R. & GALSTON, A.W. The physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Archives Biochemistry Biophysics*, San Diego, 235:283-303, 1984.

SMITH, T.A. The occurrence, metabolism and functions of amines in plants. *Biological Review*, Oxford, 46:201-241, 1971.

SMITH, T.A. Recent advances in the biochemistry of plant amines. *Phytochemistry*, Oxford, 14:865-890, 1975.

- SMITH, T.A. Polyamines. *Annual Review Plant Physiology*, Palo Alto, 36:117-143, 1985.
- STEVENS, L. The biochemical role of naturally occurring polyamines in nucleic acid synthesis. *Biological Review*, Oxford, 45:1-27, 1970.
- SUHAYDA, C.G & HAUG, A. Organic acid reduce aluminium toxicity in maize root membranes. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 68:189-195, 1986.
- TABOR, L.B. & TABOR, H. Polyamines. *Annual Review Biochemistry*, Palo Alto, 53:749-790, 1984.
- TATTINI, M; HIMLER, D.; TRAVERSI, M.L. & PIERONI, A. Polyamine analysis in salt stressed plants of olive (*Olea europaea* L.) *Journal of Horticultural Science*, Kent, 68(4):613-617, 1993.
- TAYLOR, G.J. Mechanisms of aluminium tolerance in *Triticum aestivum* (wheat). V.Nitrogen nutrition, plant-induced pH and tolerance to aluminium: correlation without causality? *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 66(4):694-699, 1988.
- TAYLOR, G.J. & FOY, C.D. Mechanisms of aluminium tolerance in *Triticum aestivum* (wheat). IV.The role of ammonium and nitrate nutrition. *Canadian*

Journal Botany, Ottawa, 63:2181-2186, 1985.

THORNTON, F.C.; SCHAEDELE, M.; RAYNAL, D.J. & ZIPPERER, C. Effects of aluminium on honeylocust (*Gleditsia triacanthos* L.) seedlings in solution culture. *Journal Experimental Botany*, Oxford, 37(178):775-785, 1986.

TONIN, G.S.; WHEELER, C.T. & CROZIER, A. Effect of changes in nitrogen nutrition on polyamine content of *Alnus glutinosa*. *Plant Cell and Environment*, Oxford, 14:415-421, 1991.

TORRIGIANI, P.; SCOCCIANI, V. & BAGNI, N. Polyamine oxidase activity and polyamine content in maize during seed germination. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 74:427-432, 1988.

TURNER, L.B. & STEWART, G.R. Factor affecting polyamine accumulation in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaf sections during osmotic stress. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 39(200):311-316, 1988.

VENEKAMP, J.H. & KOOT, J.T.M. Alterations of free amide and amino acid contents during the development of maize plants (*Zea mays* L.), *Annals of Botany*, London, 62: 589-596, 1988.

YOUNG, N.D. & GALSTON, A.W. Putrescine and acid stress. Induction of arginine descarboxilase activity and putrescine accumulation. *Plant Physiology*, Rock Ville, 71:767-771, 1983.

ZAGO, E.A. Acúmulo de putrescina e interrupção de síntese proteica em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.) deficiente em potássio. Piracicaba, 1978. 59p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)

APÊNDICE

TABELA 1: Porcentagem de matéria seca em folha e raiz de milho (*Zea mays*, cultivar Taiúba, sensível e tolerante ao alumínio) cultivados em solução nutritiva com 0 e 4,5 ppm do íon e colhida aos 21 dias.

TRATAMENTO		TEOR DE MATÉRIA SECA(%)	
		FOLHA	RAIZ
TS	0 ppm	11,45 (ab)	6,34 (b)
TS	4,5ppm	13,62 (a)	9,83 (a)
TT	0 ppm	10,35 (b)	5,39 (b)
TT	4,5ppm	11,78 (ab)	5,37 (b)
DMS 5%		3,13	2,58

*médias com a mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 2: Porcentagem de matéria seca em folha de milho (*Zea mays*, cultivar Taiúba tolerante e sensível) cultivado com 4 diferentes concentrações de Al e colhida aos 7 dias.

TRATAMENTO		FOLHA
TS	0 ppm	9,61 (e)
TS	1,5 ppm	11,26 (bc)
TS	4,5 ppm	11,90 (b)
TS	9,0 ppm	13,90 (a)
TT	0 ppm	10,08 (de)
TT	1,5 ppm	10,11 (de)
TT	4,5 ppm	10,82 (cd)
TT	9,0 ppm	13,20 (a)
DMS 5%		0,90

*médias com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tuckey.

TABELA 3:Efeito do alumínio na altura da planta e comprimento de raiz em milho (*Zea mays*, cultivar Taiúba sensível-TS e tolerante-TT)cultivado em solução nutritiva com 0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

TRATAMENTO		ALTURA (CM)	RAIZ (CM)
TS	0 ppm	33,10 (a)	42,50 (a)
TS	4,5 ppm	18,80 (c)	15,15 (c)
TT	0 ppm	33,15 (a)	40,12 (a)
TT	4,5 ppm	27,87 (b)	31,20 (b)
DMS 5%		5,09	4,26

*médias com a mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 4: Efeito do alumínio sobre o comprimento de raiz e altura de planta de milho (*Zea mays*, cultivar Taiúba sensível-TS e tolerante-TT) cultivado em solução nutritiva com 4 diferentes concentrações de Al e colhida aos 7 dias.

TRATAMENTO		ALTURA (CM)	RAIZ (CM)
TS	0 ppm	38,34 (a)	23,34 (ab)
TS	1,5 ppm	35,00 (ab)	24,33 (a)
TS	4,5 ppm	17,34 (c)	16,34 (b)
TS	9,0 ppm	15,00 (c)	18,00 (ab)
TT	0 ppm	38,33 (a)	22,00 (ab)
TT	1,5 ppm	34,00 (ab)	20,67 (ab)
TT	4,5 ppm	24,67 (abc)	21,34 (ab)
TT	9,0 ppm	20,00 (bc)	19,00 (ab)
DMS 5%		16,05	7,85

*médias com a mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 05: Efeito do alumínio nos teores de minerais em folhas de milho cultivado em solução nutritiva com 0,0 e 4,5 ppm de Al durante 21 dias.

	CV.SENSÍVEL		CV.TOLERANTE		
	0,0 PPM	4,5 PPM	0,0 PPM	4,5 PPM	DMS 5%
FÓSFORO	1,55(b)	2,27(a)	1,13(b)	1,45(b)	0,43
ALUMÍNIO	24,60(b)	56,27(a)	24,31(b)	52,11(ab)	28,81
POTÁSSIO	2,72(b)	4,65(a)	2,83(b)	3,26(ab)	1,63
CÁLCIO	1,10(a)	0,30(c)	0,97(ab)	0,51(a)	0,53
MAGNÉSIO	0,59(a)	0,32(a)	0,53(a)	0,28(a)	0,34
N-TOTAL	1,70(a)	0,94(b)	1,24(ab)	0,96(b)	0,51

*médias com a mesma letra em uma mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tuckey

TABELA 06: Efeito do alumínio nos teores de minerais em raízes de milho cultivado em solução nutritiva com 0,0 e 4,5ppm de Al durante 21 dias.

	CV.SENSÍVEL		CV.TOLERANTE		DMS 5%
	0,0PPM	4,5 PPM	0,0 PPM	4,5 PPM	
FÓSFORO	1,27(b)	1,75(a)	1,29(b)	1,97(a)	0,33
ALUMÍNIO	74(b)	3131(a)	119(b)	3252(ab)	772
POTÁSSIO	1,10(b)	1,45(ab)	1,12(b)	1,97(a)	0,74
CÁLCIO	0,58(a)	0,25(b)	0,58(a)	0,27(b)	0,20
MAGNÉSIO	0,32(a)	0,22(a)	0,34(a)	0,20(a)	0,19
N-TOTAL	0,73(a)	1,11(b)	0,83(ab)	0,83(b)	0,39

*médias com a mesma letra em uma mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tuckey

TABELA 07: Efeito do alumínio sobre a atividade de Redutase de Nitrato em folhas de milho (*Zea mays*, cultivar Taiúba sensível-TS e tolerante-TT) cultivado em solução nutritiva com duas concentrações de Al durante 21 dias.

TRATAMENTO		$\mu\text{M NO}_2/\text{grama de tecido fresco/hora}$
TS	0 ppm	208,06 (b)
TS	4,5 ppm	237,26 (ab)
TT	0 ppm	259,39 (a)
TT	4,5 ppm	243,32 (ab)
DMS 5%		53,17

*médias assinaladas com as mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de tuckey.

TABELA 8: Efeito do alumínio sobre a atividade da Redutase do Nitrato em folhas de milho cultivado em solução nutritiva com duas concentrações de Al e medido aos 7, 14 e 21 dias.

(*atividade da Redutase do Nitrato medida em $\mu\text{M NO}_2/\text{g.mat.fresca/hora}$)

TRATAMENTO		7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
TS	0 ppm	1200,00 (ab)	355,00 (a)	267,00 (a)
TS	4,5 ppm	1045,00 (b)	390,00 (a)	290,00 (a)
TT	0 ppm	1060,00 (a)	326,00 (a)	256,00 (a)
TT	4,5 ppm	1270,00 (a)	480,00 (a)	235,00 (a)
DMS 5%		538,08	285,74	140,11

*médias assinaladas com mesma letra. em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 9: Efeito do alumínio sobre a atividade de Redutase do Nitrato em folhas de milho cultivado em solução nutritiva com 4 diferentes concentrações de Al durante 7 dias.

TRATAMENTO		$\mu\text{M NO}_2/\text{grama de tecido fresco/hora}$
TS	0 ppm	2532,00 (a)
TS	1,5 ppm	2015,00 (b)
TS	4,5 ppm	1350,00 (d)
TS	9,0 ppm	930,00 (f)
TT	0 ppm	1950,00 (bc)
TT	1,5 ppm	1925,00 (c)
TT	4,5 ppm	1395,00 (d)
TT	9,0 ppm	1006,00 (e)

DMS 5%= 77,26

*médias assinaladas com as mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de tuckey.

TABELA 10: Efeito do alumínio no acúmulo de nitrato em folhas e raízes de milho cultivado em solução nutritiva com duas concentrações de Al durante 21 dias.

(*Teor de nitrato expresso em $\mu\text{M NO}_3^-$ /grama de matéria seca)

TRATAMENTO		FOLHA	RAIZ
TS	0 ppm	275,00 (a)	327,00 (a)
TS	4,5 ppm	138,00 (b)	245,00 (b)
TT	0 ppm	280,00 (a)	373,00 (a)
TT	4,5 ppm	256,00 (a)	376,00 (a)
DMS 5%		80,98	64,38

*médias assinaladas com a mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 11: Efeito do alumínio no teor de N-NH₄⁺ em folhas e raízes de milho cultivado em solução nutritiva com duas concentrações de Al durante 21 dias.
(teor de N-NH₄⁺ expresso em mg/grama matéria seca)

TRATAMENTO		FOLHA	RAIZ
TS	0 ppm	4,56 (a)	3,91 (b)
TS	4,5 ppm	1,83 (b)	4,94 (a)
TT	0 ppm	3,25 (ab)	3,44 (b)
TT	4,5 ppm	3,22 (ab)	3,72 (b)
DMS 5%		1,62	0,94

*médias assinaladas com a mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 12: Efeito do alumínio sobre a atividade da fosfatase ácida em folhas de milho cultivadas em solução nutritiva com 4 concentrações de Al e colhida aos 7 dias.

TRATAMENTO		FOSFATASE (mM para-nitrofenol)
TS	0,0 ppm	274,00 (c)
TS	1,5 ppm	221,00 (d)
TS	4,5 ppm	295,00 (b)
TS	9,0 ppm	163,00 (g)
TT	0,0 ppm	308,00 (a)
TT	1,5 ppm	183,00 (f)
TT	4,5 ppm	194,00 (e)
TT	9,0 ppm	295,00 (b)
DMS 5%		10,47

*médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 13: Efeito do alumínio sobre a atividade da Fosfatase Ácida (expressada em mM para-nitrofenol formado/g.tecido fresco/minuto) em folhas de milho cultivado em solução nutritiva com 2 concentrações de Al medido em 3 épocas de colheita.

TRATAMENTO		7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
TS	0,0 ppm	243,00 (b)	540,00 (a)	541,00 (a)
TS	4,5 ppm	216,00 (b)	552,00 (a)	566,00 (a)
TT	0,0 ppm	290,00 (ab)	328,00 (b)	422,00 (a)
TT	4,5 ppm	347,00 (a)	442,00 (b)	607,00 (a)
DMS 5%		78,28	184,38	222,72

*médias assinaladas com a mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 14: Efeito do alumínio sobre o teor de prolina em folhas de milho cultivadas em solução nutritiva com 4 concentrações de Al e colhido aos 7 dias.

TRATAMENTO		PROLINA (nM/grama tecido fresco)
TS	0,0 ppm	60,45 (f)
TS	1,5 ppm	76,80 (e)
TS	4,5 ppm	179,20 (b)
TS	9,0 ppm	348,17 (a)
TT	0,0 ppm	111,65 (d)
TT	1,5 ppm	110,77 (d)
TT	4,5 ppm	111,65 (d)
TT	9,0 ppm	125,76 (c)
DMS 5%		10,40

*médias assinaladas com a mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

TABELA 15:Efeito do alumínio na atividade da Amina Oxidase (putrescina como substrato) durante a germinação de milho.

(*atividade da enzima dada em μg de NH_4^+ /g.matéria fresca/30 minutos)

(**medidas realizadas na radícula do milho em germinação)

TRATAMENTO		2 DIAS	4 DIAS	7 DIAS
TS	0 ppm	195,39(a)	73,16 (a)	0
TS	4,5 ppm	35,27(e)	54,73 (c)	0
TT	0 ppm	16,10(f)	73,16 (a)	0
TT	4,5 ppm	54,46(d)	32,45 (d)	0
DMS 5%		5,56	1,36	

*médias assinaladas com a mesma letra, na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tuckey.

TABELA 16:Efeito do alumínio na atividade da Amina Oxidase (espermidina como substrato) durante a germinação de milho.

(*atividade da enzima dada por $\mu\text{g NH}_4^+$ /g.matéria fresca/30minutos)

(**medidas realizadas na radícula de milho em germinação)

TRATAMENTO		2 DIAS	4 DIAS	7 DIAS
TS	0 ppm	257,84 (a)	82,38 (a)	26,74 (c)
TS	4,5 ppm	7,30 (e)	73,00 (b)	7,94 (e)
TT	0 ppm	44,43 (d)	38,66 (d)	19,50 (d)
TT	4,5 ppm	58,17 (c)	38,66 (d)	50,92 (a)
DMS 5%		4,84	2,48	1,92

*médias assinaladas como a mesma letra e na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tuckey.

TABELA 17: Efeito do alumínio sobre a atividade de Amina Oxidase (putrescina como substrato) em folha de milho cultivada em solução nutritiva com 2 concentrações de Al em 3 épocas de colheita.

	TRATAMENTO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
TS	0,0 ppm	0	0	0
TS	4,5 ppm	21,50	36,00 (a)	0
TT	0,0 ppm	0	0	0
TT	4,5 ppm	0	43,00 (a)	0
DMS 5%			15,97	

*médias assinaladas com a mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tuckey.

TABELA 18: Efeito do alumínio sobre a atividade de Amina oxidases (espermidina como substrato) em folhas de milho cultivado em solução nutritiva com 2 concentrações de Al em 3 épocas de colheita.

TRATAMENTO		7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
TS	0,0 ppm	0	0	0
TS	4,5 ppm	16,00	23,00 (a)	0
TT	0,0 ppm	0	0	0
TT	4,5 ppm	0	9,00 (b)	0
DMS 5%			12,40	

*médias assinaladas com a mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tuckey.