



**Universidade Federal de São Carlos**

**Centro de Ciências Agrárias**

**Engenharia Agrônoma**



**JACQUELINE APARECIDA MALVESTITI**

**SENSIBILIDADE DE TRÊS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR  
(*Saccharum* spp.) AO ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO AVALIADA POR  
CORANTES INDICADORES**

**ARARAS - 2011**

Universidade Federal de São Carlos

Centro de Ciências Agrárias

Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental

**JACQUELINE APARECIDA MALVESTITI**

**Sensibilidade de três variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) ao alumínio em solução avaliada por corantes indicadores**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Agrônômica – CCA – UFSCar para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Marcio Roberto Soares

**Araras-SP**

**2011**

**Dedico este trabalho à minha família, a todos meus amigos e a todos que estiveram envolvidos em minha formação profissional.**

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que estiveram envolvidos na realização deste trabalho.

- Aos técnicos do laboratório de Química e Fertilidade do solo, João, Campanha e Roberto.

- Ao meu orientador Marcio Roberto Soares, pela amizade, pela experiência e conhecimentos transmitidos, companheirismo, e acima de tudo pela confiança que depositou em mim durante a realização deste trabalho.

- Agradeço a toda minha família, principalmente meus pais, meu cunhado, minha irmã, e minha sobrinha, que sempre estiveram presentes ao meu lado, me apoiando, me dando suporte e incentivo para a conclusão deste trabalho.

- A todos os amigos e irmãos que conquistei na faculdade, e que vão estar sempre presentes em minha vida. As minhas irmãs da República Gaia e a Joana (Cigana), que sempre me apoiaram em todas as decisões da minha vida. Aos meninos da República Toca, que me receberam de braços abertos, desde o início da faculdade e se tornaram meus irmãos; aos meninos da República Trem Q Pula e; a todos da XV Turma de Eng. Agrônômica da UFSCar.

- A Mariane de Souza Oliveira, que sempre esteve ao meu lado, ajudando e auxiliando em todas as etapas deste trabalho. Dividimos angústias e alegrias durante sua realização. E conquistei uma amizade para a vida toda.

- A Marina da Silva Gomes, que acompanhou e ajudou na execução deste trabalho.

- A todos os integrantes do PMGCA, que nos forneceram os toletes de cana-de-açúcar utilizados no trabalho.

- Às professoras Silvana Meneghin e Kayna que realmente foram excepcionais, ajudando em etapas importantíssimas do trabalho.

- Ao meu namorado Eder Arakawa, que é a pessoa que mais me apóia nesta vida, me incentiva e me dá forças para buscar todos os meus sonhos.

- A Deus, por sempre estar comigo.

***"O mal de quase todos nós é que preferimos ser arruinados pelo elogio, do que sermos salvos pela crítica "***

Rückert

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Sua produção encontra-se em expansão, para regiões caracterizadas por apresentarem solos de baixa fertilidade e elevada acidez. A influência da toxidez por Al sobre o desenvolvimento do sistema radicular e na interferência da absorção de nutrientes tem sido apresentada como uma das principais causas da baixa produtividade de muitos solos. Os objetivos deste estudo foram: avaliar o desenvolvimento radicular das variedades RB855156, SP81-3250 e RB935744 de cana-de-açúcar em solução nutritiva com diferentes condições de estresse por Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ); examinar alterações morfológicas nas raízes da cana-de-açúcar através de microscopia óptica; verificar a penetração do Al no tecido radicular com o uso de corantes complexantes de Al; testar a eficiência dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol como indicadores da presença de Al no tecido radicular. O experimento foi conduzido em condições de laboratório, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os resultados de taxa de crescimento radicular ( $\text{cm dia}^{-1}$ ) foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Parâmetros morfológicos do Al nos tecidos radiculares, indicados pela coloração, foram explorados na forma de imagens por registro fotográfico das observações ao microscópio óptico. O aumento da concentração de Al em solução causou diminuição da taxa de alongamento radicular. A concentração crítica de Al em solução, independente da variedade, segundo análise estatística foi de 1400  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$ . As principais alterações morfológicas das raízes foram observadas a partir da concentração crítica de 800  $\mu\text{mol Al L}^{-1}$  em solução, e incluem a produção de calose e o colapso e a deformação da coifa. O corante hematoxilina foi mais eficiente do que o violeta de pirocatecol para indicar o acúmulo e localização de Al no tecido radicular. A seqüência de tolerância das variedades de cana-de açúcar ao Al em solução foi RB935744 (tardia)>SP81-3250 (média)> RB855156 (precoce), e esta pode estar correlacionada com o ciclo das variedades.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 A - Sistema radicular de uma planta jovem de cana-de-açúcar, mostrando raízes crescendo a partir dos toletes e raízes emergindo da base dos brotos novos; B - Sistema radicular de uma touceira de cana-de-açúcar bem estabelecida, indicando três tipos de raízes funcionais, as superficiais, as de sustentação e as de aprofundamento, e a profundidade de penetração e distribuição no solo (adaptado de Smith et al., 1999) ..... 16
- Figura 2 Distribuição do sistema radicular de algumas variedades de cana-de-açúcar aos 16,5 meses de idade, no ciclo de cana-planta, em um LATOSSOLO VERMELHO com caráter álico (Vasconcelos & Garcia, 2005).....20
- Figura 3 Aspectos morfológicos de raízes de plântulas de trigo afetadas pelo alumínio do solo: (A) efeito do Al no crescimento das raízes; (B) microscopia eletrônica de varredura (MEV) do ápice radicular de variedades tolerante (B) e sensível (direita) ao alumínio do solo (C) (Delhaize & Ryan, 1995) .....21
- Figura 4 A) Redução no sistema radicular da cana-de-açúcar causada pela presença de Al associada à deficiência de Ca; (B) espessamento do ápice radicular das raízes de cana-de-açúcar sob condições de estresse por alumínio do solo (Anderson & Bowen, 1990). .....21
- Figura 5 A) Pré-germinação dos mini-toletes de cana-de-açúcar em cartuchos de papel germiteste; B) disposição dos cartuchos em bandejas com lâmina de solução de  $\text{CaCl}_2$   $0,001 \text{ mol L}^{-1}$  .....26
- Figura 6 A e B) Pré-germinação dos mini-toletes de cana-de-açúcar em bandejas contendo vermiculita expandida média, umedecida na proporção vermiculita:água de 1:0,8 .....26
- Figura 7 A) Mini-toletes de cana-de-açúcar retirados da bandeja de vermiculita, lavados e selecionados para imersão em solução nutritiva; B) mini-toletes com sistema radicular imerso em solução nutritiva; C) sistema de arejamento e iluminação artificial; D) aferição do comprimento radicular inicial dos mini-toletes em fase que antecede o contato com solução contendo Al .....29
- Figura 8 A) Réplicas de mini-toletes de cana-de-açúcar selecionadas para imersão em recipientes contendo concentrações crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). B) Mini-toletes imersos em recipientes de PVC rígido, contendo concentrações crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).....30
- Figura 9 A) Placas de Petri contendo solução do corante hematoxilina; B) Raízes da variedade RB935744 submetidas à hematoxilina após estresse por Al ..... 32

Figura 10. A) Placas de Petri contendo solução do corante violeta de pirocatecol; B) Raízes da variedade RB935744 submetidas ao violeta de pirocatecol após estresse por Al.....	32
Figura 11. Escala de avaliação do acúmulo de alumínio em raízes de plantas de cafeeiro por meio do teste de coloração pela hematoxilina (extraído de Braccini et al., 2000a) .....	32
Figura 12. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB855156 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a) .....	36
Figura 13. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade SP81-3250 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a) .....	36
Figura 14. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB935744 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a) .....	37
Figura 15. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB855156 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).....	38
Figura 16. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade SP81-3250 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).....	38
Figura 17. Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB935744 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).....	39
Figura 18. Ápices radiculares da variedade RB855156 em microscópio óptico (ampliação 10 x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente .....	42
Figura 19. Ápices radiculares da variedade SP81-3250 em microscópio óptico (ampliação 10x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente .....	43

Figura 20. Ápices radiculares da variedade RB935744 em microscópio óptico (ampliação 10x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente .....44

Figura 21. Comparação das taxas de alongamento radicular de mini-toletes de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidos a concentrações crescentes de Al em solução.....46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teores foliares de macro e de micronutrientes considerados adequados para a cultura da cana-de-açúcar.....	27
Tabela 2. Fontes e concentrações de micronutrientes utilizadas na composição da solução nutritiva para cultivo de mini-toletes de cana-de-açúcar .....	28
Tabela 3. Fontes e concentrações de micronutrientes utilizadas na composição da solução nutritiva para cultivo de mini-toletes de cana-de-açúcar .....	28
Tabela 4. Potencial indicador dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol conforme a escala de avaliação do acúmulo de Al em ápices radiculares sugerida por Braccini et al. (2000a) .....	40
Tabela 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) de taxa de alongamento radicular de mini-toletes de variedades de cana-de-açúcar submetidos à concentrações crescentes de Al em solução .....	47
Tabela 6. Média geral da taxa de alongamento radicular de mini-toletes, de cada variedade de cana-de-açúcar, submetidos ao Al em solução .....	47
Tabela 7. Médias de taxa de alongamento radicular de mini-toletes de variedades de cana-de-açúcar em resposta à cada concentração de Al em solução .....	48

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	10
2. Revisão Bibliográfica .....	12
2.1 Cana-de-açúcar .....	12
2.1.1 Origem e classificação taxonômica .....	12
2.2 A cana-de-açúcar no Brasil.....	12
2.3 Expansão da fronteira agrícola da canavicultura .....	14
2.4 Fatores interferentes na produtividade da cana-de-açúcar.....	14
2.5 Sistema Radicular da cana-de-açúcar .....	16
2.6 Efeito do alumínio (Al) sobre o desenvolvimento vegetal.....	17
2.7 Mecanismos bioquímicos de tolerância ao Al .....	23
3. Objetivos do trabalho .....	25
4. Material e métodos.....	25
4.1 Pré-germinação dos mini-toletes de cana-de-açúcar com gema única.....	26
4.2 Solução nutritiva e tempo de cultivo de mini-toletes de cana-de-açúcar.....	27
4.3 Faixa de concentração de Al em solução nutritiva .....	29
4.4 Tempo de exposição das raízes ao estresse por Al.....	30
4.5 Avaliação das alterações radiculares causadas pela exposição ao Al em solução.....	31
4.5.1 Teste de coloração das raízes com indicadores e alocação do Al nos tecidos radiculares.....	31
4.5.2. Estimativas das taxas de alongamento radicular (Rossiello & Jacob-Neto, 2006) .....	33
4.6 Forma de análise dos resultados .....	34
5. Resultados e discussão.....	35

5.1 Teste de coloração das raízes com corantes indicadores .....	35
5.1.1 Método do corante hematoxilina.....	35
5.1.2 Método do corante violeta de pirocatecol (VPC).....	37
5.1.3 Análise comparativa da eficiência de corantes indicadores da presença de Al em tecidos radiculares de cana-de-açúcar .....	40
5.2 Microscopia óptica de ápices radiculares de mini-toletes de cana-de-açúcar submetidos ao estresse por Al.....	41
5.3 Taxas de alongamento radicular .....	46
6. Considerações finais .....	48
7. Conclusões.....	50
8. Referências bibliográficas .....	51



## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil existe uma grande extensão territorial de cultivo com a cultura da cana-de-açúcar, com tendências de expansão, tanto para territórios com ambiente de produção adequado como também para áreas de difícil manejo da cultura, com déficits hídricos e solos de baixa fertilidade.

Entre os componentes que interferem na produção, o solo se destaca pela importante função de disponibilizar nutrientes, água e dar sustentação à planta. Segundo Lepsch (1987) é fundamental o conhecimento dos fatores edáficos para se classificar o potencial agrícola. Dentre os atributos físicos do solo, destacam-se a textura, a disponibilidade de água, a porosidade, a aeração e a resistência à penetração, que constituem de fatores ligados diretamente ao crescimento radicular. Porém, os atributos químicos são os mais restritivos ao pleno desenvolvimento vegetal em solos das regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, a ocorrência de solos com potencial para atividade agrícola e afetados por problemas de toxidez por Al é da ordem de 60% (ABREU Jr. et al., 2003). Cerca de 70% das áreas cultivadas com cana-de-açúcar no Brasil estão sobre solos ácidos (SALDANHA et al., 2007), com severas limitações em termos de fertilidade, principalmente pela influência da toxidez por Al sobre o desenvolvimento do sistema radicular, que interfere na absorção de água e de nutrientes, limitando a produtividade (SOBRAL & GUIMARÃES, 1992; ABREU Jr. et al., 2003).

Os principais Programas de Melhoramento Genético de Cana-de-Açúcar do país [Programas de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (PMGCA) da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA) - variedades RB; Centro de Tecnologia Canavieira (CTC - antiga Copersucar) – variedades SP/CTC; Instituto Agrônomo de Campinas – variedades IAC; CanaVialis – variedades CV] detém importantes informações sobre o potencial de produção de suas variedades, tais como os aspectos fitotécnicos (altura, diâmetro de colmo, brotação, perfilhamento, fechamento, florescimento, tombamento, resistência à pragas e doenças, etc.) e os parâmetros tecnológicos (teores de sacarose e de fibras) (HOFFMAN et al., 2008), mas geralmente abordam com muita superficialidade os fatores ligados aos atributos do solo, baseando-se em frágeis aproximações para ambientes de produção, empregando os termos “ambiente

favorável e desfavorável”, “baixa-média-alta exigência em ambientes”, “baixa-média-alta exigência em fertilidade do solo”, etc.. O sistema de classificação de ambientes de produção da cana-de-açúcar sugerido por Prado (2005) destaca a textura, a disponibilidade de água e a fertilidade da camada arável e do subsolo, isto é, os aspectos físico-hídricos, químicos e morfológicos do solo. Os critérios para enquadramento nos ambientes A, B, C, D e E envolvem a água disponível (AD), a saturação por bases [eutrófico ( $V\% > 50$ ) e distrófico ( $V\% < 50$ )], a capacidade de troca de cátions (CTC), a saturação por alumínio (állico  $m\% > 50$ ) e as perspectivas de produtividade (t/ha). Trata-se, até o momento, do sistema mais amplamente usado para alocação de variedades e que está de acordo com diversos estudos que têm demonstrado a influência dos atributos do solo sobre a produtividade da cana-de-açúcar, com respostas distintas para a camada arável e para a camada subsuperficial, sendo que muitos deles têm ratificado que a produtividade depende dos atributos de subsuperfície (SOBRAL & GUIMARÃES, 1992; LANDELL et al., 2003).

Ainda não há referencial teórico consolidado sobre a tolerância de variedades de cana-de-açúcar, sobretudo das RBs, a condições adversas de acidez extrema e, principalmente, à alta saturação por Al do solo. A identificação destas variedades pode contribuir para sistemas sustentáveis de produção, já que a seleção de genótipos tolerantes às condições restritivas de fertilidade do solo, com ênfase aos atributos de subsuperfície limitantes à expansão do sistema radicular, pode maximizar a eficiência de utilização dos insumos e minimizar o risco imposto pela combinação de diversas características restritivas do ambiente que impedem a máxima expressão genética das variedades.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CANA-DE-AÇÚCAR

#### 2.1.1 ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Originalmente, a *Saccharum officinarum* era a principal espécie de cana-de-açúcar cultivada no Sudeste Asiático. Porém, como o cultivo era muito sensível aos estresses ambientais, foram surgindo híbridos de cruzamentos interespecíficos e de cruzamentos entre espécies mais resistentes, adaptados às diversidades climáticas (MATSUOKA *et al.*, 1999), ocasionando o aprimoramento da classificação taxonômica da cana-de-açúcar, principalmente no nível de espécies.

Divisão:	Embryophyta siphonogama
Subdivisão:	Angiospermae
Classe:	Liliopsida
Ordem:	Glumiflorae
Família:	Poaceae
Tribo:	Andropogoneae
Subtribo:	Sacchareae
Genêro:	Saccharum
Espécies:	<i>Saccharum barberi</i> , Jeswiet <i>Saccharum edule</i> , Hask <i>Saccharum officinarum</i> , L. <i>Saccharum robustum</i> , Jeswiet <i>Saccharum sinensis</i> , (Roxb) Jeswiet <i>Saccharum spontaneum</i> , L.

### 2.2 A CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), matéria-prima para a produção de açúcar e etanol. Estimativas da União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA, 2010) mostraram que o país exportou, com a safra 2008/2009, 20,7 milhões de toneladas de açúcar (US\$ 6 milhões) e 4,7 bilhões de

litros de etanol (U\$ 2,2 bilhões). Segundo o último levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento, a produção brasileira de cana-de-açúcar na safra 2009/2010 foi de 612,2 milhões de toneladas (CONAB, 2010), permitindo ao Brasil produzir 34,6 milhões de toneladas de açúcar e 25,8 bilhões de litros de etanol. Houve aumento de 7,1% na produção e a produtividade média passou de 80,9 t/ha para 81,3 t/ha, ou seja, um incremento de 0,4% quando comparada com a safra 2008/2009. Apesar da ampliação da área plantada, regiões importantes para a canavicultura nacional, como o Norte/Nordeste, apresentaram queda na produção (-3,2%) e na produtividade média (-4,8%). Por outro lado, algumas regiões promissoras para a expansão do cultivo da cana-de-açúcar, sobretudo a Centro-Oeste, apresentaram aumento de 12,7% na produtividade média e de 30,4% na produção. De acordo com avaliação quinzenal da safra 2010/2011 feita pelo Departamento de Economia e Estatística da União da Indústria de Cana-de-açúcar (UNICA, 2010), a região Centro-Sul já apresentou aumento de 52,2% na produção de cana-de-açúcar, atingindo 26,2 milhões de toneladas.

A demanda crescente dos mercados interno e externo (EUA, Japão e Europa), principalmente por combustíveis renováveis como o etanol, encontra suporte no Brasil, que detém a tecnologia de produção e áreas agrícolas disponíveis para a expansão da canavicultura, já que apenas 1,5% das terras agrícolas brasileiras são ocupadas pela cana-de-açúcar. A demanda mundial projetada de etanol para o ano de 2010 é de aproximadamente 30 bilhões de litros e está baseada nas previsões de aumento do consumo interno de etanol combustível e das exportações brasileiras do produto, decorrente do interesse mundial pela mistura do álcool à gasolina e da produção brasileira de biodiesel utilizando-se o etanol anidro na transesterificação de óleos vegetais (UNICA, 2010). As projeções para longo prazo mostram que o Brasil produzirá 829 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2015/2016, convertendo em 41,3 milhões de toneladas de açúcar e 46,9 bilhões de litros de etanol. Para atender as previsões, estima-se que o Brasil ampliará a atual área plantada de 7,5 para 12,2 milhões de hectares (TORQUATO, 2006).

### **2.3 EXPANSÃO DA FRONTEIRA AGRÍCOLA DA CANAVICULTURA**

A crescente demanda dos derivados da cana-de-açúcar está exigindo com que a cultura se expanda para novas áreas. Esta expansão deverá ocorrer principalmente nas regiões Centro-Sul e Centro-Oeste do país, englobando o Oeste do Estado de São Paulo, o Sudoeste de Minas Gerais e os Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná. Estas áreas são predominantemente cobertas por pastagens e caracterizadas por um inverno seco, com períodos de deficiência hídrica bastante pronunciada.

Os programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar têm buscado priorizar os processos de hibridação e de seleção, na tentativa de obter cultivares mais produtivas e adaptadas às regiões de expansão, melhorando a compreensão sobre as características morfológicas e fisiológicas que estariam associadas à resposta ao estresse hídrico e nutricional.

As perspectivas mais promissoras de novos aumentos de produtividade estão baseadas na adequação das variedades de cana-de-açúcar ao zoneamento climático e, principalmente, aos diferentes tipos de solos. Um programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar inicia-se com a obtenção de populações com ampla variabilidade genética e com a seleção dos indivíduos com potencial produtivo superior. No entanto, o sucesso desta atividade pode ser comprometido em razão da inserção desses indivíduos em ambientes incompatíveis com o potencial genético, desconsiderando o seu potencial edafoclimático (MAULE et al., 2001; SCARPARI & BEAUCLAIR, 2004; LANDELL et al., 2005).

### **2.4 FATORES INTERFERENTES NA PRODUTIVIDADE DA CANA-DE-AÇÚCAR**

O desenvolvimento e a produtividade da cana-de-açúcar são limitados por fatores bióticos e abióticos, que incluem a variedade (LANDELL et al., 2005), o manejo fitotécnico, como o espaçamento (GALVANI et al., 1997), controle de plantas infestantes (KUVA et al., 2003), pragas (DINARDO-MIRANDA et al., 2008) e doenças (FERRO et al., 2007), correção e adubação do solo (BITTENCOURT et al., 1990; BENEDINI & KORNDÖFER, 1992; MORELLI et al., 1992; DEMATTÊ, 2005;

SALDANHA et al., 2007), nutrição mineral da cultura (VITTI & MAZZA, 2002; ROSSETTO et al., 2004) e, sobretudo, a interação entre estes fatores, já que eles têm efeito sobre as respostas fisiológicas da cultura em relação ao metabolismo de crescimento e desenvolvimento dos colmos, na formação da panícula floral, na época de maturação e, por fim, na produtividade.

O solo é um dos componentes mais importantes de um conjunto complexo de fatores de produção, que se destaca pelo seu importante papel de fornecer às plantas suporte físico, água e nutrientes. É indiscutível a importância da disponibilidade de água e de nutrientes para as plantas, mas é necessário que haja uma eficiente estrutura de captação destes recursos. Portanto, o conhecimento dos fatores edáficos é importante para julgar o potencial de produção agrícola e para alocar de maneira mais eficiente as variedades de cana-de-açúcar nos ambientes mais promissores (MAULE et al., 2001; LANDELL et al., 2003).

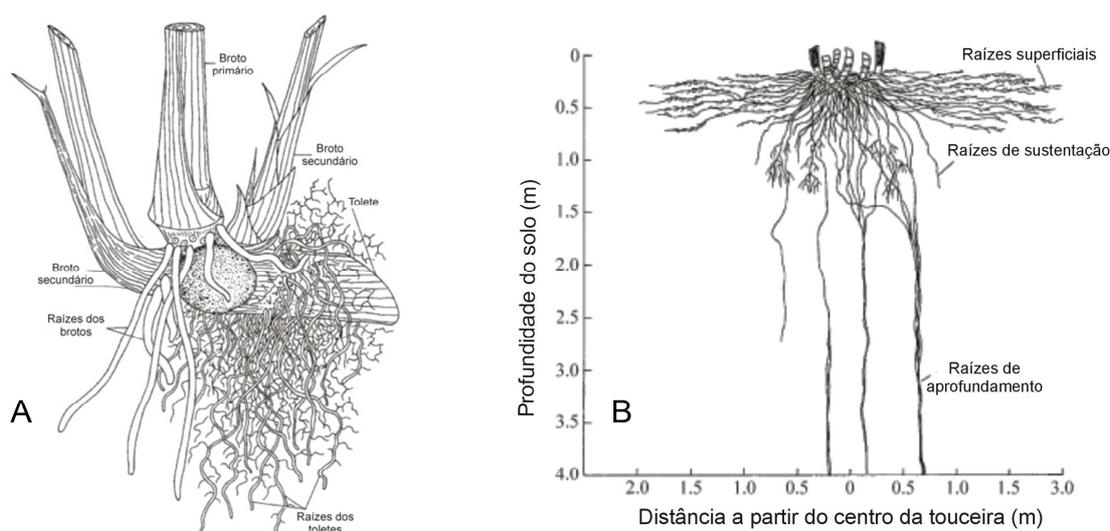
Diversos estudos têm demonstrado a influência dos atributos do solo sobre a produtividade da cana-de-açúcar com respostas distintas para a camada arável e para a camada subsuperficial (SOBRAL & GUIMARÃES, 1992; LANDELL et al., 2003), e muitos deles têm ratificado que a produtividade depende dos atributos de subsuperfície (LANDELL et al., 2003).

Impedimentos físicos e químicos do solo têm sido as causas mais freqüentes do reduzido crescimento radicular no subsolo (VASCONCELOS & GARCIA, 2005). Dentre os atributos físicos do solo, destacam-se a textura, a disponibilidade de água, a porosidade, a aeração e a resistência à penetração, que constituem de fatores ligados diretamente ao crescimento radicular. Porém, os atributos químicos são os mais restritivos ao pleno desenvolvimento vegetal em solos das regiões tropicais e subtropicais. Predominantemente, tratam-se de solos ácidos, pertencentes, em sua maioria, às Ordens dos LATOSSOLOS e dos ARGISSOLOS. Possuem severas limitações em termos de fertilidade, com baixa reserva de nutrientes, principalmente, Ca e P, baixas saturação por bases (V%) e capacidade de troca de cátions (CTC) e alta saturação por alumínio (m%) (SOBRAL et al., 1992; ABREU et al., 2003; LANDELL et al., 2003).

## 2.5 SISTEMA RADICULAR DA CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar possui um sistema radicular diferente do das culturas anuais, o que permite a exploração das camadas mais profundas do solo. Trata-se de uma cultura semi-perene com ciclo de 5 a 7 anos, cujo desenvolvimento radicular em maior profundidade é fundamental para o acréscimo de produtividade em solos de baixa fertilidade e de baixa retenção de umidade (EVANS, 1964; BALL-COELHO, 1992; DEMATTÊ, 2005).

As raízes da cana-de-açúcar desenvolvem-se logo em seguida ao plantio, a partir das reservas do tolete (Figura 1). No início do desenvolvimento radicular, são formadas as raízes de fixação que suprirão os rebentos que brotarão das gemas (ALVAREZ et al., 2000). As raízes do tolete têm alongação inicial de poucos mm d<sup>-1</sup>, podendo alcançar 20 mm d<sup>-1</sup> em poucos dias após a germinação, sob condições favoráveis. Raízes dos brotos crescem mais rapidamente, com taxas máximas de alongação de 80 mm d<sup>-1</sup>, mas em curtos períodos. As taxas de crescimento médio para raízes dos brotos após 10 dias são de 40 mm d<sup>-1</sup>, em solos arenosos, e de 28 mm d<sup>-1</sup> em solos argilosos (SMITH et al., 1998). A taxa média de penetração, isto é, a taxa de crescimento descendente do sistema radicular pode chegar a 20-30 mmd<sup>-1</sup> (EVANS, 1964; SMITH et al., 2005) (Figura 1).



**Figura 1.** **A** - Sistema radicular de uma planta jovem de cana-de-açúcar, mostrando raízes crescendo a partir dos toletes e raízes emergindo da base dos brotos novos; **B** - Sistema radicular de uma touceira de cana-de-açúcar bem estabelecida, indicando três tipos de raízes funcionais, as superficiais, as de sustentação e as de aprofundamento, e a profundidade de penetração e distribuição no solo (adaptado de Smith et al., 1999).

A dificuldade de expansão do volume radicular incide diretamente no menor volume de solo explorado pelo sistema radicular e na menor produtividade. Kofler (1986) comparou a profundidade do sistema radicular de diversas culturas no Brasil e em outros países e observou que, no Brasil, a profundidade do sistema radicular da cana-de-açúcar atinge 60 cm, contra 160-200 cm em outros países.

O desenvolvimento do sistema radicular tem influência direta sobre alguns fatores determinantes para a produtividade final, tais como: resistência à seca, eficiência na absorção dos nutrientes do solo, tolerância ao ataque de pragas do solo, capacidade de germinação e/ou brotação, porte, tolerância à movimentação de máquinas, etc. (KOFFLER, 1986; PEARSON, 1996; VASCONCELOS et al., 2003; COSTA et al., 2007). Aspectos de longevidade da planta também dependem do sistema radicular. Alterações estruturais nas raízes em resposta à seca são permanentes e o restabelecimento do crescimento após a rehidratação envolve, usualmente, a formação de novas raízes laterais. Além disso, o sistema radicular de cana-de-açúcar é essencial para a regeneração das soqueiras após a colheita (SAMPAIO et al., 1987; ALVAREZ et al., 2000).

O tamanho e a distribuição do sistema radicular é fortemente afetado pela distribuição e disponibilidade de água (KOFFLER, 1986) e de nutrientes (SAMPAIO et al., 1987) no solo, causando diferenças na capacidade das culturas em explorar recursos do solo em camadas mais profundas (EVANS, 1964; SMITH et al., 2005). Todos os fatores que favorecem a expansão do sistema radicular são importantes para aumentar a produtividade da cana-de-açúcar, já que seu caráter semi-perene permite e exige que a planta explore maior volume de solo em maiores profundidades.

## **2.6 EFEITO DO ALUMÍNIO (Al) SOBRE O DESENVOLVIMENTO VEGETAL**

O alumínio (Al), considerado como principal fator de toxicidade em solos ácidos, é o metal mais abundante e o terceiro elemento mais comum na crosta terrestre. Suas espécies iônicas possuem efeito tóxico para a grande maioria dos vegetais, em concentrações da ordem de micromolar na solução do solo (FOY et al, 1978).

Em soluções ácidas (pH < 5), o Al predomina na forma de seu íon livre ( $\text{Al}^{3+}$ ) hexahidratado  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ , espécie química trivalente mais tóxica às plantas

(HOWELER, 1991). Quando o pH se eleva, a espécie  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  sofre sucessivas desprotonações para formar  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$  e  $\text{Al}(\text{OH})_3$  (KOCHIAN, 1995). Condições com pH de solo acima de 5,5 favorecem a precipitação do Al na sua forma relativamente insolúvel de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  (gibsite). No interior da célula vegetal, principalmente para o pH comumente estabelecido no citoplasma (~pH 7,4), o íon aluminato,  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ , é a espécie dominante (KOCHIAN, 1995).

Em solos das regiões tropicais e subtropicais úmidas, a alta acidez e os altos níveis de alumínio restringem a produção agrícola (ABREU Jr. et al., 2003). Cerca de 70% das áreas cultivadas com cana-de-açúcar no Brasil estão sobre solos ácidos (SALDANHA et al., 2007).

Em seu estudo, Abreu Jr. et al. (2003) mostraram que 75% dos valores de pH da camada superficial de solos de 26 regiões brasileiras estiveram entre 3,78 e 5,52 e que o  $\text{Al}^{3+}$  foi o cátion trocável predominante em mais de 30% dos solos com pH inferior a 5,6. Para valores de pH menores que 5,6, a dissolução das formas sólidas do Al tende a aumentar, ocorrendo liberação de formas iônicas na solução do solo (RITCHIE, 1994). Sendo assim, à medida que os solos se acidificam, a concentração de Al na solução do solo aumenta, ocupando as posições de troca catiônica.

De todos os atributos químicos, a toxidez por Al é considerada a barreira química que mais limita o aprofundamento do sistema radicular. A influência da toxidez por Al sobre o desenvolvimento do sistema radicular e na interferência da absorção de nutrientes tem sido apresentada como uma das principais causas da baixa produtividade de muitos solos (SOBRAL & GUIMARÃES, 1992; ABREU Jr. et al., 2003). Em um LATOSSOLO VERMELHO Álico, isto é, com saturação por Al maior do que 50% ( $m\% > 50$ ), Alvarez et al. (2000) encontraram 90% da biomassa radicular da cana-de-açúcar nos primeiros 30 cm, aos 10,6 meses do plantio.

Sob condições de elevada toxidez por Al, as raízes têm suas funções bioquímicas e crescimento prejudicados, em decorrência do processo celular por ligação do Al com ácidos nucleicos, além das alterações na deposição de polissacarídeos na parede celular, o que dificulta a absorção de nutrientes. Há inibição de crescimento das raízes, que tornam-se curtas, grossas, com coloração castanha e limitada formação de pêlos radiculares. Dentre os efeitos e bioquímicos destacam-se o aumento na viscosidade do protoplasma das células das raízes com conseqüente decréscimo da permeabilidade a água, sais e corantes, a redução na

habilidade de uso de sacarose para a formação de polissacarídeos nas paredes celulares, a inibição de desidrogenase isocítrica e de enzimas málicas, a redução na fosforilase de açúcares, na respiração e na síntese de DNA, o déficit nutricional (fósforo, potássio, cálcio, magnésio e molibdênio), uma vez que ele interfere no processo de absorção, translocação, transporte e utilização de nutrientes, principalmente Ca e P, além de aumentar a predisposição da planta injuriada a infecções por fungos (KOCHIAN, 1995).

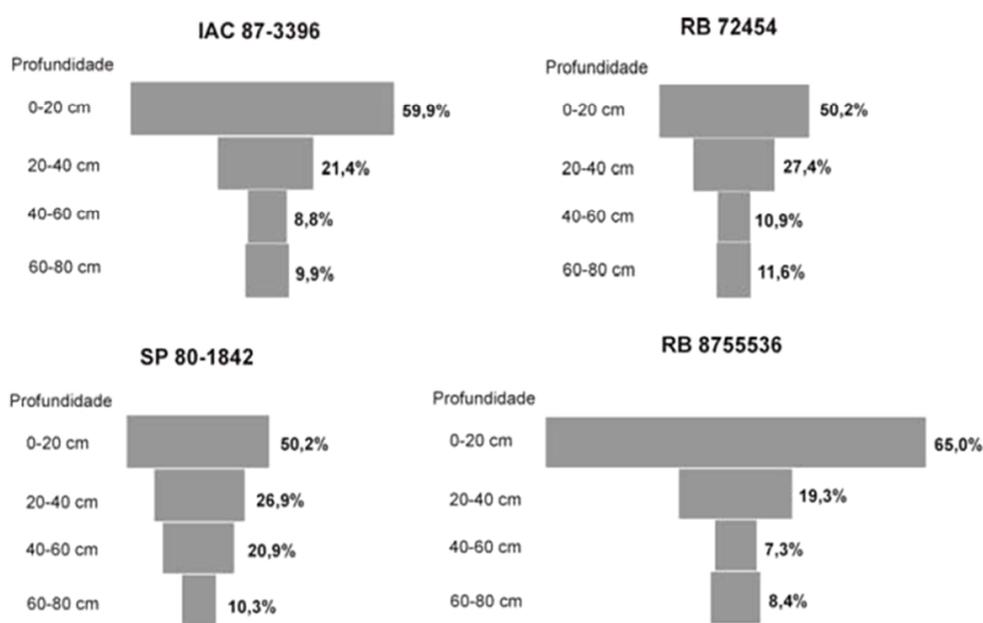
Duas maneiras são propostas para contornar o problema de excesso de Al no solo. A primeira é explorar a tolerância de espécies e de variedades às condições de acidez do solo (FOY, 1997; DELHAIZE & RYAN, 1995; BRACCINI et al., 2000ab; SILVA et al., 2002) e a segunda é promover a neutralização das condições ácidas (QUAGGIO, 2000).

A incorporação superficial do calcário é prática comum empregada na agricultura tropical como forma de elevar o pH do solo e de promover a detoxificação do Al, mediante a sua precipitação química na forma de hidróxido. Porém, existe a dificuldade da neutralização da acidez subsuperficial, atribuída à lenta solubilidade do calcário. Com isso, é muito freqüente o confinamento do sistema radicular no horizonte superficial, o que traz conseqüências restritivas para o crescimento da parte aérea, assim como para o pleno crescimento e desenvolvimento da planta. Essa limitação adquire maior relevância durante períodos de deficiência hídrica, quando a aquisição de água e de nutrientes das camadas mais profundas pode ser decisiva para a sobrevivência das plantas (FIDALSKI & TORMENA, 2005).

Ainda que existam práticas alternativas, como a incorporação profunda do calcário, ou o uso de sais mais solúveis, como o gesso agrícola, tais opções sofrem restrições de ordem técnica ou econômica, que podem inviabilizar sua utilização. Em vista dessa situação, a busca de variedades produtivas e tolerantes à toxidez por Al surge como alternativa importante dentro das estratégias de manejo dos solos ácidos.

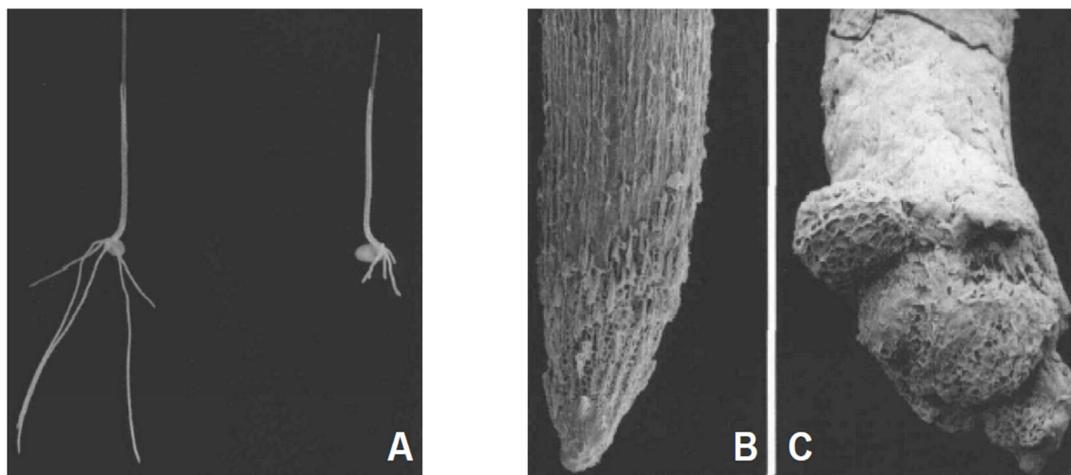
Há dificuldade para a definição de um valor crítico para o Al do solo que provoca toxidez às plantas, pois não existe consistência entre os diferentes resultados experimentais, em razão das diferenças genéticas entre as espécies testadas, os solos e as condições experimentais (QUAGGIO, 2000). No entanto, há certa unanimidade em admitir que a cana-de-açúcar não é tão sensível à acidez do solo quando comparada com outras espécies vegetais (MARINHO & ARAÚJO

FILHO, 1983; VIANA et al., 1983; SOBRAL & GUIMARÃES, 1992), mas há relatos de grande variação entre os cultivares com respeito à capacidade de expansão e aprofundamento do sistema radicular (Figura 2), principalmente em resposta ao estresse causado pelo Al, assim como diferenças entre os padrões de desenvolvimento radicular de cana-planta e cana-soca (SMITH et al., 2005; VASCONCELOS & GARCIA, 2005).



**Figura 2.** Distribuição do sistema radicular de algumas variedades de cana-de-açúcar aos 16,5 meses de idade, no ciclo de cana-planta, em um LATOSSOLO VERMELHO com caráter álico (Vasconcelos & Garcia, 2005).

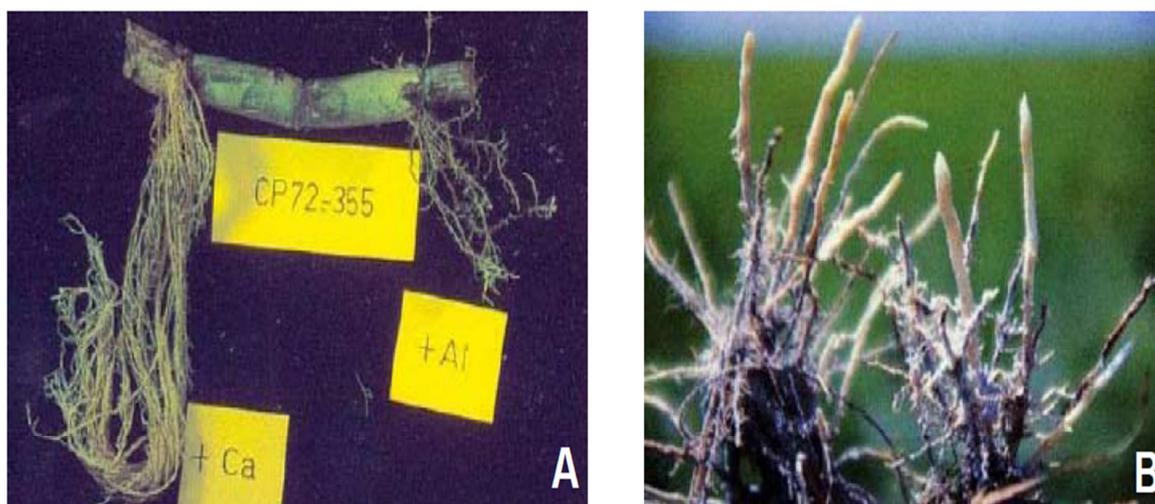
Baixas concentrações de Al na solução do solo são tóxicas para a maioria das espécies vegetais, primariamente por lesar o funcionamento normal das raízes, inibindo drasticamente seu crescimento e bloqueando os mecanismos de aquisição e de transporte de água e de nutrientes. A área mais afetada pela toxidez pelo Al são as extremidades das raízes, ocorrendo ausência de ramificações finais e diminuição da área superficial do sistema radicular (Figura 3).



**Figura 3.** Aspectos morfológicos de raízes de plântulas de trigo afetadas pelo alumínio do solo: (A) efeito do Al no crescimento das raízes; (B) microscopia eletrônica de varredura (MEV) do ápice radicular de variedades tolerante (B) e sensível (direita) ao alumínio do solo (C) (Delhaize & Ryan, 1995).

Há a rápida inibição do processo de alongação radicular (cerca de 1-2 h após o contato com o Al tóxico), em razão da paralisação da divisão celular (WRIGHT, 1989; DELHAIZE & RYAN, 1995; KOCHIAN, 1995).

A exposição contínua ao Al conduz à alterações morfológicas, como o engrossamento e encurtamento das raízes, com aspecto quebradiço (DELHAIZE & RYAN, 1995), o desenvolvimento de cor castanha na região apical e alterações na arquitetura do sistema radicular, reprimindo o crescimento das laterais e conduzindo à formação de sistemas radiculares com menor área e volume (Figura 4) (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006).



**Figura 4.** (A) Redução no sistema radicular da cana-de-açúcar causada pela presença de Al associada à deficiência de Ca; (B) espessamento do ápice radicular

das raízes de cana-de-açúcar sob condições de estresse por alumínio do solo (ANDERSON & BOWEN, 1990).

Não existe consenso entre os pesquisadores na proposição de condições e de critérios experimentais para avaliar a sensibilidade de espécies ou variedades à toxidez por Al. Braccini et al. (2000ab) propuseram combinações de duas variáveis ou mais, especialmente aquelas envolvendo parte aérea e raízes, como os critérios que apresentam resultados mais consistentes.

Entretanto, Rossiello & Jacob Neto (2006) relataram que a grande maioria das culturas anuais de interesse econômico não possui habilidade de acúmulo de Al na parte aérea e, portanto, é improvável que atributos como peso ou área foliar, número de ramos, perfilhos ou altura, sejam afetados diretamente pela presença do Al nos tecidos. Logo, os melhores indicadores da variabilidade genotípica para a tolerância ao Al tóxico são aqueles ligados às raízes (FERREIRA et al., 2006). Na caracterização de genótipos tolerantes a Al, existem procedimentos que podem ser classificados em 5 categorias: (a) avaliações, em solução nutritiva, do crescimento da parte aérea e do sistema radicular, na presença e na ausência de Al (CAMBRAIA et al., 1991); (b) cultivo em solo com diferentes saturações por Al em casa-de-vegetação (DAL BÓ et al., 1986ab); (c) testes de coloração que avaliam o acúmulo de Al na extremidade das raízes, como a hematoxilina, pirocatecol, nitrato de prata, papel-solução (BRACCINI et al., 2000ab), aluminon (MATSUMOTO & MORIMURA, 1980) e morin (ETICHA et al., 2005); (d) cultura de tecidos; (e) medida da capacidade de troca de cátions das raízes (CROOKE, 1964; ABU-ZEID, 1975; 1979).

Muitos estudos avaliaram a sensibilidade de cultivares, linhagens e híbridos de gramíneas cultivadas (BRENES & PEARSON, 1973) ao Al no solo ou em solução, principalmente milho (*Zea mays* L.) (FURLANI et al., 1986; PINTRO et al., 1995), arroz (*Oryza sativa* L.) (VASCONCELOS et al., 2002; KIKUI et al., 2005) e trigo (*Triticum aestivum* L.) (CAMARGO et al., 1987; CARVER & OWNBY, 1995; SOUZA, 1998; VOSS et al., 2006). MASCARENHAS et al. (1984), MENOSSO et al. (2000) e SILVA et al. (2005) avaliaram a tolerância de plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merr.], enquanto Braccini et al. (2000ab) e Mattiello et al. (2008) estudaram plantas de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) sob estresse por Al. Outros estudos apresentaram avaliações comparativas entre cana-de-açúcar, feijão, soja e

milho (HETHERINGTON et al., 1988) e entre arroz, feijão e milho (GAMA & KIEHL, 1999). Dentre os poucos trabalhos que estudaram a tolerância da cultura da cana-de-açúcar ao Al estão os de Hetherington et al. (1988) e de Sobral & Guimarães (1992).

## 2.7 MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO

Nem todas as espécies respondem igualmente ao estresse por Al, em razão de haver tolerância diferencial ao elemento entre espécies e cultivares (CANÇADO, LOPES & PAIVA, 1999). De acordo com Taylor (1988), a tolerância das plantas ao Al é dividida em dois grupos principais:

- a) tolerância em decorrência de mecanismos de exclusão, em que o Al é impedido de alcançar seus sítios de toxicidade e, assim, conferir seu efeito fitotóxico;
- b) tolerância decorrente de mecanismos internos, em que o Al consegue penetrar no interior da célula, mas tem sua ação fitotóxica neutralizada por compartimentalização em nível subcelular, principalmente no vacúolo.

A tolerância está relacionada à capacidade de continuidade da divisão e alongação celular sob condições de estresse, à modificação do ambiente radicular reduzindo a concentração de Al disponível e à possibilidade de manter áreas meristemáticas viáveis para formação de novos tecidos (FOY et al, 1978).

Para Rengel (1996), a baixa capacidade de troca catiônica (CTC) da parede celular da raiz tem sido considerada como um mecanismo externo de tolerância ao Al, sugerindo que plantas com menor CTC apresentariam uma menor capacidade de absorver este íon tóxico para o interior da célula. Entretanto, Blamey et al. (1992) estudaram a tolerância de mono e dicotiledôneas e concluíram que não há associação entre as espécies de maior tolerância ao Al e a baixa CTC radicular, não sendo a CTC radicular um bom parâmetro para a tolerância ao alumínio.

A membrana plasmática poderia atuar como uma barreira à absorção do Al, uma vez que alterações na composição de fosfolípidos podem promover a modificação de suas propriedades elétricas. Isso dificulta a interação do Al com a membrana plasmática (YERMIYAHU et al., 1997) e a produção de proteínas genótipo-específicas de transporte do Al através da membrana, decorrente da supressão da expressão de genes que as codificam, resultando no menor fluxo de Al para o interior da célula em genótipos tolerantes (ZHANG et al., 1995).

A indução de uma barreira de pH na interface solo-raiz também seria uma forma de exclusão do Al (TAYLOR, 1998). O aumento do pH na região da rizosfera proporciona a precipitação deste elemento, impossibilitando sua absorção (CANÇADO et al., 1998).

Outras barreiras que o Al pode enfrentar para atingir as regiões sensíveis do meristema radicular são a mucilagem (ARCHAMBAULT et al., 1996) e a deposição de calose (ZHANG et al., 1995), substâncias formadas por polissacarídeos e que revestem a superfície radicular, protegendo as regiões de crescimento da raiz, retendo o Al presente no apoplasto.

Cançado et al. (1999) destacaram a importância da inativação do Al pela exsudação de moléculas quelantes que complexam este íon metálico. Tais quelantes são liberados no apoplasto e/ou na rizosfera, impedindo que o Al alcance seus sítios de toxidez. Uma vez complexado com a molécula exsudada pela raiz o Al perde seu efeito fitotóxico. Ácidos orgânicos são uma importante classe destes quelantes. Segundo Suhayda & Haug (1986) e Delhaize et al. (1993), os genótipos tolerantes ao Al secretam altos níveis de ácidos orgânicos.

Basu et al. (1994), citados por Cançado et al. (1999), observaram que o acúmulo de polipeptídios em solução contendo Al, na qual cresciam plântulas de trigo, elevava-se com o tempo, até 120 horas, restando pouco Al após esse período. Esse padrão de exsudação não foi afetado a  $100 \mu\text{mol}^{-1}$  de Al nos cultivares de trigo tolerantes. Segundo os autores, polipeptídios exsudados pela raiz podem complementar possíveis polipeptídios citossólicos que se ligam ao Al, por quelatizar o Al solúvel nas proximidades da raiz, limitando sua entrada no interior do simplasma e permitindo, dessa forma, o crescimento da planta em solos com Al tóxico.

Com relação aos mecanismos de tolerância interna, além da existência de polipeptídeos que atuam no citossol, como moléculas quelantes, complexando o Al presente no interior da célula, acredita-se também na existência de enzimas que não teriam sua atividade prejudicada na presença do Al, bem como a eliminação do Al do ambiente celular por compartimentalização no vacúolo ou em outra estrutura similar (TAYLOR, 1988).

Genótipos tolerantes de muitas espécies cultivadas possuem a capacidade de reconhecer a presença do Al no ambiente de cultivo e estimular a exsudação destes compostos pelas células do tecido apical da rizosfera, formando ligantes com o Al

impedindo sua entrada na raiz, e auxiliando na fitodisponibilização de nutrientes que são complexados pelo íon tóxico, como o P (KLIMASHEVSKII & CHERNYSHEVA, 1980; LEE & FOY, 1986; MIYASAKA et al., 1991).

Não há evidências que suportem o conceito de que um único gene de efeito maior controle a tolerância ao Al, sendo provável um sistema mais complexo que garante a herança genética. Em geral, para a maioria das espécies vegetais, a tolerância ao Al é tida como característica dominante, poligênica e que pode ser controlada por um ou mais genes de ação maior, além de vários genes modificadores (KOCHIAN, 1995).

### **3. OBJETIVOS DO TRABALHO**

O objetivo geral do trabalho foi estudar a sensibilidade das variedades RB855156, SP81-3250 e RB935744 de cana-de-açúcar ao alumínio em solução.

Os objetivos específicos foram:

- a) avaliar o desenvolvimento radicular das variedades de cana-de-açúcar em solução nutritiva com diferentes condições de estresse por Al;
- b) examinar alterações morfológicas nas raízes da cana-de-açúcar através de microscopia óptica;
- c) verificar a penetração do Al no tecido radicular com o uso de corantes complexantes de Al;
- d) testar a eficiência dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol como indicadores da presença de Al no tecido radicular;
- e) elaborar uma escala numérica para a tolerância das variedades de cana-de-açúcar ao estresse por Al.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

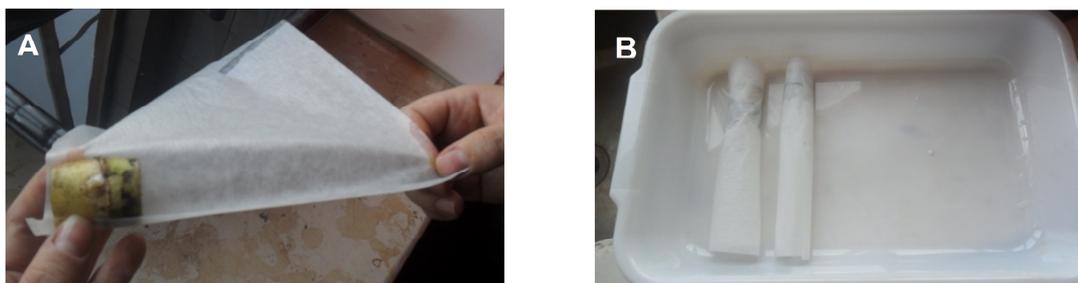
O estudo foi realizado em condições de laboratório, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), campus de Araras-SP da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) no período de junho de 2010 a junho de 2011.

Foram utilizadas 3 variedades de cana-de-açúcar, sendo uma de ciclo precoce (RB855156), uma de ciclo médio (SP81-3250) e uma de ciclo tardio

(RB935744). O material biológico, na forma de mini-toletes com gema única termicamente tratados, foi fornecido pelo Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-Açúcar (PMGCA) do CCA-UFSCar.

#### 4.1 PRÉ-GERMINAÇÃO DOS MINI-TOLETES DE CANA-DE-AÇUCAR COM GEMA ÚNICA

Testes de eficiência de pré-germinação com 40 mini-toletes foram realizados em cartuchos de papel germiteste (figura 5) e em bandejas contendo vermiculita média expandida (figura 6), acondicionados em câmara de germinação à temperatura de 30°C e fotoperíodo ininterrupto.



**Figura 5.** A) Pré-germinação de mini-toletes de cana-de-açúcar em cartuchos de papel germiteste; B) disposição dos cartuchos em bandejas com lâmina de solução de  $\text{CaCl}_2$  0,001 mol L<sup>-1</sup>.



**Figura 6.** Pré-germinação dos mini-toletes de cana-de-açúcar em bandejas contendo vermiculita expandida média, umedecida na proporção vermiculita:água de 1:0,8.

As bandejas contendo os cartuchos de germiteste eram mantidas com lâmina de solução de  $\text{CaCl}_2$  0,001 mol L<sup>-1</sup>, repostas a cada 48 horas. Para a pré-germinação

em vermiculita, uma camada de 4-5 cm de material previamente umedecido (relação vermiculita:água 1:0,8) foi colocada em bandeja para o plantio dos mini-toletes, os quais foram cobertos com uma fina camada de vermiculita. A umidade das bandejas foi monitorada diariamente, havendo necessidade de reposição por borrifamento de água a cada 48 horas. Antes de serem submetidos à pré-germinação, as extremidades dos mini-toletes foram seladas com parafina para evitar sua deterioração durante o período de imersão em solução nutritiva. Após o período de 15 dias, procedeu-se a triagem de mini-toletes com uniformidade de desenvolvimento radicular. Os testes apontaram a maior eficiência da vermiculita que, por ter proporcionado maiores uniformidade e tamanho de raízes, foi adotada como meio padrão de germinação neste estudo.

#### 4.2 SOLUÇÃO NUTRITIVA E TEMPO DE CULTIVO DE MINI-TOLETES DE CANA-DE-AÇÚCAR

A adequada nutrição mineral dos mini-toletes de cana-de-açúcar, antes de serem submetidos ao estresse por Al, foi feita por uma adaptação da clássica solução de Hoagland & Arnon, preparada com fundamento nos teores foliares de nutrientes considerados adequados para a cultura de cana-de-açúcar (Tabela 1).

**Tabela 1.** Teores foliares de macro e de micronutrientes considerados adequados para a cultura da cana-de-açúcar.

Nutriente	Teores foliares
Macronutrientes (g kg <sup>-1</sup> )	
N	18-25
P	1,5-3,0
K	10-16
Ca	2,0-8,0
Mg	1,0-3,0
S	1,5-3,0
Micronutrientes (mg kg <sup>-1</sup> )	
B	10-30
Cu	6-15
Fe	40-250
Mn	25-250
Mo	0,05-0,20
Zn	10-50

Fonte: Raji et al. (1996)

A composição e a concentração da solução nutritiva de macro (Tabela 2) e de micronutrientes (Tabela 3) adequadas para a cultura da cana-de-açúcar foram calculadas conforme o método prático de Cometti et al. (2006). A solução nutritiva foi usada para garantir aos toletes e, principalmente, às suas raízes plenas condições de fornecimento balanceado de nutrientes, de forma a evitar que o sistema radicular apresentasse limitações que não fossem decorrentes do estresse pelo Al.

**Tabela 2.** Fontes e concentrações de macronutrientes utilizadas na composição da solução nutritiva para cultivo de mini-toletes de cana-de-açúcar.

Nutriente	Sal/Fertilizante	Concentração adotada g / 1000 L
N	Nitrato de cálcio	407
K	Nitrato de potássio	547
P	Fosfato monoamônico (MAP)	181
Mg	Sulfato de magnésio	150

**Tabela 3.** Fontes e concentrações de micronutrientes utilizadas na composição da solução nutritiva para cultivo de mini-toletes de cana-de-açúcar.

Nutriente	Sal/Fertilizante	Concentração adotada mg L <sup>-1</sup>
B	Ácido bórico	0,30
Cu	Sulfato de cobre	0,15
Fe	Fe-EDTA	2,40
Mn	Sulfato de manganês	1,50
Mo	Molibdato de sódio	0,03
Zn	Sulfato de zinco	0,15

Os mini-toletes selecionados das bandejas (figura 7A) foram transferidos para tanques de 25 L de solução nutritiva, identificados e fixados em placa de isopor para imersão do sistema radicular (figura 7B). O sistema foi mantido sob arejamento contínuo da solução, por borbulhamento de ar suprido por moto-compressor, e sob iluminação fluorescente artificial permanente de 5000 lux (figura 7C). Em seis dias, as raízes alcançaram vigor, comprimento e uniformidade adequados para imersão

em solução nutritiva adicionada de concentrações crescentes de Al, ocasião em que tiveram seu comprimento inicial medido (figura 7D).

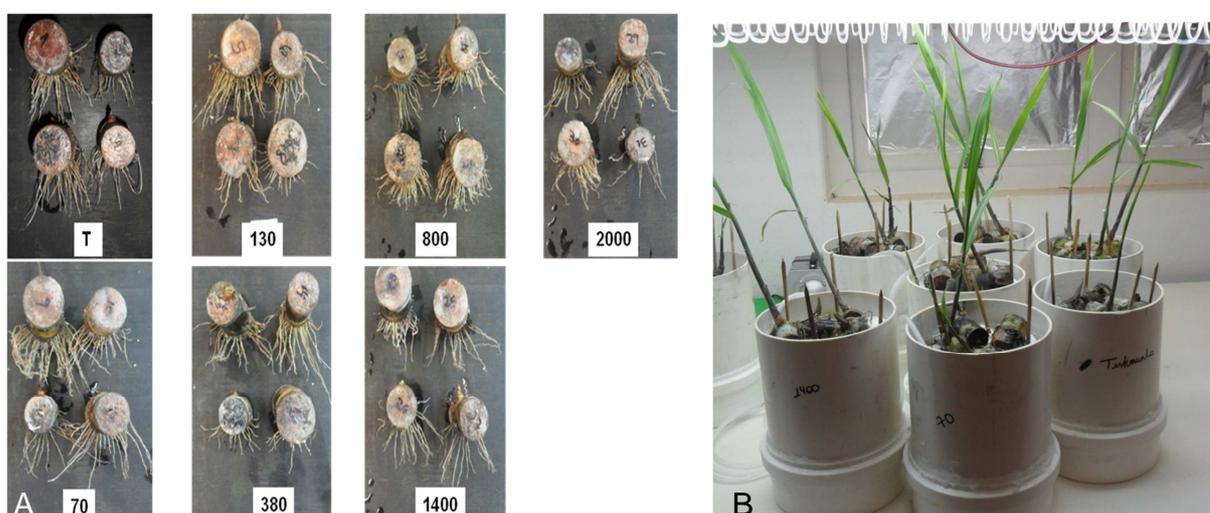
#### 4.3 FAIXA DE CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Após o período de 6 dias de imersão em solução nutritiva, foram selecionados, para cada variedade, 28 mini-toletes com uniformidade radicular, os quais foram submetidos a 7 tratamentos com Al, com 4 réplicas cada (figura 8A). O experimento de exposição do sistema radicular de mini-toletes de cana-de-açúcar a condições de estresse por Al foi desenvolvido em recipientes de PVC rígido, de 10 cm de diâmetro, 20 cm de altura e capacidade de 2,7 L (figura 8B).



**Figura 7:** A) Mini-toletes de cana-de-açúcar retirados da bandeja de vermiculita, lavados e selecionados para imersão em solução nutritiva; B) mini-toletes com sistema radicular imerso em solução nutritiva; C) sistema de arejamento e iluminação artificial; D) aferição do comprimento radicular inicial dos mini-toletes em fase que antecede o contato com solução contendo Al.

Os mini-toletes foram transferidos para os recipientes contendo solução nutritiva e doses crescentes de Al, fornecido na forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  nas concentrações de 0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , escolhidas conforme Hetherington et al. (1988) para constituírem os tratamentos T1 (testemunha), T2, T3, T4, T5, T6 e T7, respectivamente. O pH da solução nutritiva contendo Al foi ajustado para 4,0 diariamente com  $\text{HCl}$  0,05  $\text{mol L}^{-1}$  para garantir o predomínio da espécie livre trivalente de Al [ $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ ] (Rossiello & Jacob Neto, 2006). Nesta etapa, Fe foi omitido da solução, para evitar a interferência e assegurar a atuação dos corantes pela complexação exclusiva do Al, e a concentração de P foi reduzida para 0,0025  $\text{mmol L}^{-1}$ , para contornar problemas de precipitação com Al (Braccini et al., 2000ab).



**Figura 8:** A) Réplicas de mini-toletes de cana-de-açúcar selecionadas para imersão em recipientes contendo concentrações crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). B) Mini-toletes imersos em recipientes de PVC rígido, contendo concentrações crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

#### 4.4 TEMPO DE EXPOSIÇÃO DAS RAÍZES AO ESTRESSE POR Al

Como não há indicação consolidada em referências bibliográficas sobre o tempo necessário de imersão de raízes de cana-de-açúcar em soluções contendo Al, foram considerados os trabalhos de Vasconcelos et al. (2002), que identificaram diferenças na tolerância ao Al entre várias cultivares de arroz em apenas quatro dias de exposição a uma solução contendo 80  $\text{mmol L}^{-1}$  de Al, e o de Braccini et al. (2000ab), que avaliaram as raízes de plântulas de café após um período de 80 dias

em solução nutritiva, quando então foram submetidas à solução com Al durante 20 horas.

As raízes ficaram expostas à solução contendo Al por seis dias. Após este período, as plântulas tiveram suas raízes medidas e transferidas para bandejas que continham água destilada, para que os procedimentos de coloração pudessem ser realizados.

#### **4.5 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES RADICULARES CAUSADAS PELA EXPOSIÇÃO AO Al EM SOLUÇÃO**

##### **4.5.1 TESTE DE COLORAÇÃO DAS RAÍZES COM INDICADORES E ALOCAÇÃO DO Al NOS TECIDOS RADICULARES**

O acúmulo de alumínio nos ápices das raízes foi avaliado pela coloração com dois corantes complexadores de Al:

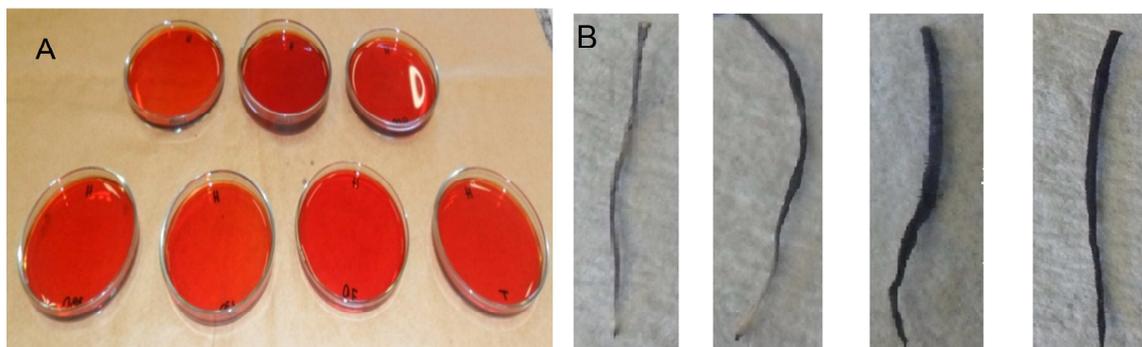
(a) hematoxilina: corante que produz coloração violeta quando complexado com o Al (figura 10). Foi pioneiramente usado por Polle et al. (1978), teve o emprego bem-sucedido por Braccini et al. (2000ab) e é recomendado por Rossiello & Jacob-Neto (2006) para gramíneas. A solução foi preparada pela dissolução de 1 g de hematoxilina, 0,1 g de  $\text{NaIO}_3$  e uma gota de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em um litro de água destilada.

(b) violeta de pirocatecol (Jacob-Neto, 1993): corante que produz coloração azul quando um complexo quelatado é formado com Al (figura 11). A solução estoque de violeta de pirocatecol foi preparada com a concentração de  $1,1 \text{ mM L}^{-1}$ , com posterior diluição de 1 mL em 24 mL de água destilada.

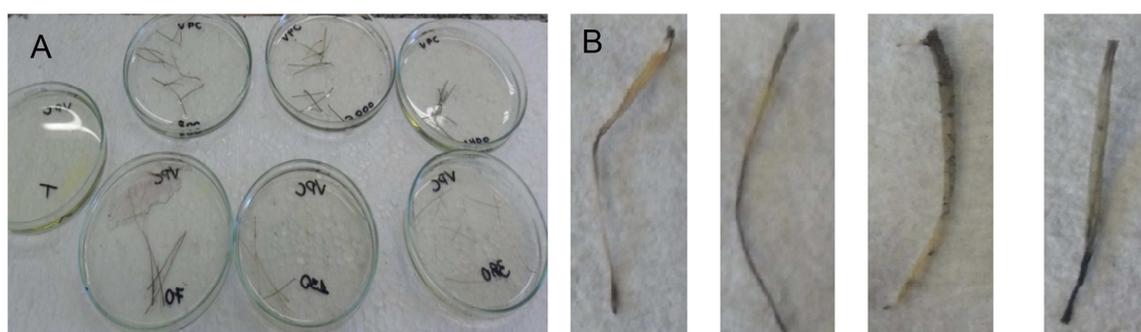
Após o período de exposição ao Al, as plântulas foram transferidas para bandejas que continham água destilada e mantidas sob arejamento constante, por 30 min. Em seguida, as raízes foram separadas dos toletes, submetidas à solução de hematoxilina e de violeta de pirocatecol, por 5 e 10 minutos, respectivamente, em placas de Petri e com quantidade suficiente para cobrir as raízes (figuras 9 e 10). Após o período de atuação do corante, as raízes foram lavadas em água corrente por cerca de um minuto e, novamente, mantidas em água destilada por 40 minutos para remoção do excesso de corante.

Após o período de coloração, as raízes foram submetidas à cortes de 1,5 cm, a fim de avaliar o ápice radicular por meio da escala de coloração (Figura 11)

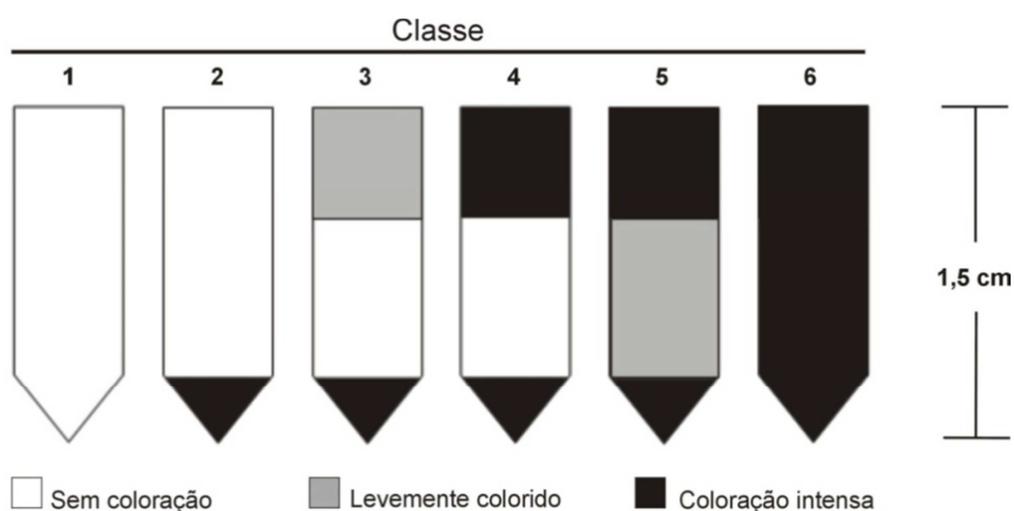
elaborada por Braccini et al (2000a) para raízes de plântulas de cafeeiro e que foi, neste estudo, adaptada para cana-de-açúcar, conforme a intensidade e localização da região colorida.



**Figura 9.** A) Placas de Petri contendo solução do corante hematoxilina; B) Raízes da variedade RB935744 submetidas à hematoxilina após estresse por Al.



**Figura 10.** A) Placas de Petri contendo solução do corante violeta de pirocatecol; B) Raízes da variedade RB935744 submetidas ao violeta de pirocatecol após estresse por Al.



**Figura 11.** Escala de avaliação do acúmulo de alumínio em raízes de plantas de cafeeiro por meio do teste de coloração pela hematoxilina (extraído de Braccini et al., 2000a).

Segundo Braccini et al. (2000a), as classes 3 e 4 são zonas de exclusão em razão dos genótipos mais tolerantes acumularem Al na região basal dos ápices radiculares, enquanto os genótipos sensíveis apresentam acúmulo de Al na região meristemática dos ápices radiculares; região responsável pelo crescimento e diferenciação do tecido.

#### 4.5.2. ESTIMATIVAS DAS TAXAS DE ALONGAMENTO RADICULAR (ROSSIELLO & JACOB-NETO, 2006)

Medidas biométricas dos comprimentos radiculares de todos os mini-toletes foram registradas de forma a obter dois grupos de medidas do comprimento inicial (Ci):

- a) Ci (Al<sub>0</sub>): comprimento inicial (mm) da raiz seminal, antes da exposição à solução teste sem Al;
- b) Ci (Al<sub>x</sub>): comprimento inicial (mm) da raiz seminal, antes da exposição à solução teste na dose “x” de Al.

Após o período de 6 dias de exposição ao estresse por Al, os mini-toletes foram transferidos para solução nutritiva livre de Al, e o seu comprimento radicular foi medido novamente, obtendo-se:

- a) Cf (Al<sub>0</sub>): comprimento final (mm) da raiz seminal, após a exposição à solução teste sem Al;
- b) Cf (Al<sub>x</sub>): comprimento final (mm) da raiz seminal, após a exposição à solução teste na dose “x” de Al.

Com as medidas iniciais e finais de comprimento radicular, foram calculadas as taxas de alongamento (TA):

$$TA_{Al_0} = \frac{Cf_{Al_0} - Ci_{Al_0}}{Tf - T_0} \quad TA_{Al_x} = \frac{Cf_{Al_x} - Ci_{Al_x}}{Tf - T_0}$$

em que a TA é a taxa de alongamento expressa em cm dia<sup>-1</sup>; T<sub>f</sub>-T<sub>0</sub> representa o intervalo de tempo desde o início dos tratamentos com Al. Os valores de Ci<sub>Al<sub>0</sub></sub>, Ci<sub>Al<sub>x</sub></sub>, Cf<sub>Al<sub>0</sub></sub> e Cf<sub>Al<sub>x</sub></sub> foram constituídos pela média do comprimento das três maiores

radicelas, na ocasião de cada medida. Os valores absolutos das taxas de alongação dos controles foram comparados diretamente com os do tratamento.

#### **4.6 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS**

Devido as condições controladas em laboratório, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 7x3 (7 concentrações de Al em solução e 3 variedades de cana-de-açúcar), com quatro réplicas. A tolerância das variedades da cana-de-açúcar ao Al em solução foram avaliadas pelos seguintes critérios:

- a) resultados da taxa de alongamento radicular foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, para a identificação de diferenças significativas entre os tratamentos e variedades. Como não houve significância estatística na interação concentração de Al x variedades, os graus de liberdade dos tratamentos não foram desdobrados para o estudo dos efeitos principais dos fatores e os efeitos das interações entre fatores.
- b) parâmetros morfológicos do Al nos tecidos radiculares, indicados pela coloração, foram explorados na forma de imagens por registro fotográfico das observações ao microscópio óptico e comparados por meio de escala de acúmulo de Al sugerida por Braccini et al. (2000a), adaptada para cana-de-açúcar.

#### **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De modo geral, o exame dos ápices radiculares revelou a aparência engrossada e escurecida (amarronzada), além de outras injúrias típicas, tais como o aspecto retorcido, deformado e quebradiço, também observado por Lagos et al. (1991) e por Dornelles et al. (1996) em seus estudos sobre os efeitos do Al em raízes vegetais.

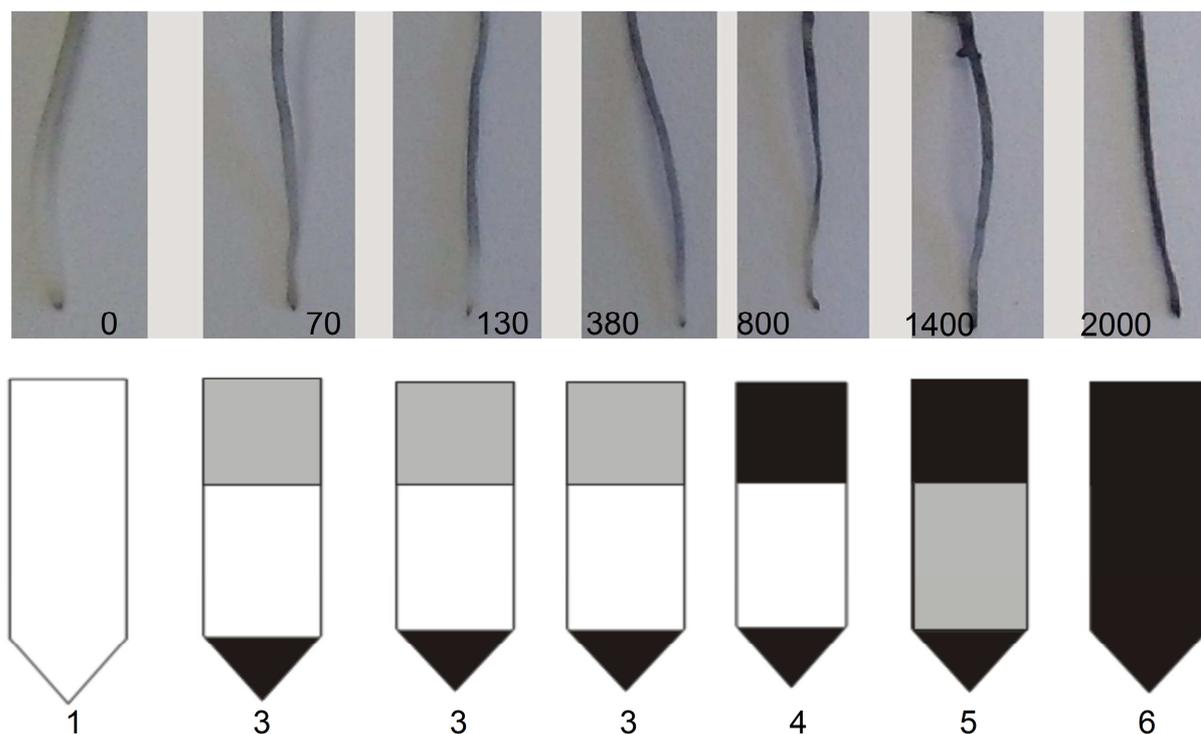
## 5.1 TESTE DE COLORAÇÃO DAS RAÍZES COM CORANTES INDICADORES

Os ápices radiculares (1,5 cm) das variedades de cana-de-açúcar foram submetidos aos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol, após crescimento em solução com 0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{M}$  de  $\text{Al L}^{-1}$ , a pH 4,0, por 6 dias, e foram avaliados por meio da escala de coloração extraída de Braccini et al. (2000a) (figura 11). Rossiello & Jacob Neto (2006) citaram os corantes violeta de pirocatecol (VPC) e a hematoxilina como os métodos mais eficientes e baratos de localizar o Al no apoplasma de raízes crescidas em meio hidropônico.

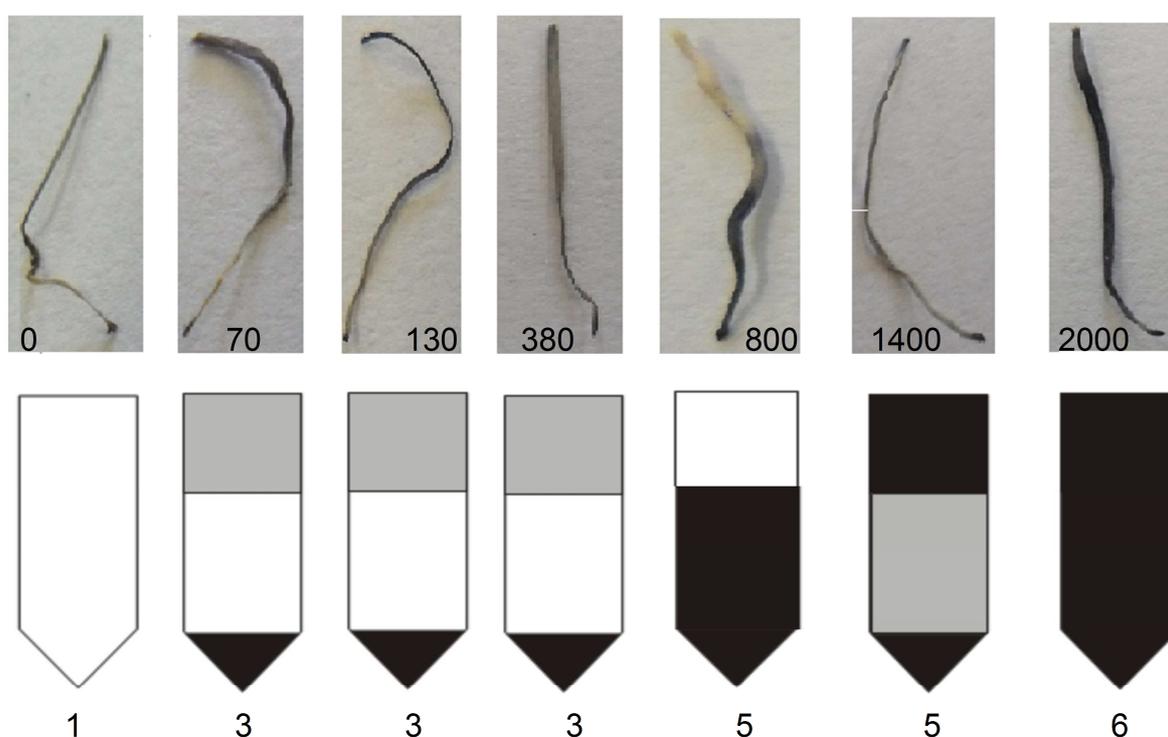
### 5.1.1. MÉTODO DO CORANTE HEMATOXILINA

O princípio desse método de avaliação baseia-se na oxidação da hematoxilina para hemateína (por  $\text{NaIO}_3$ , ou outros agentes oxidantes), que, em presença de íons metálicos (Cr, Fe ou Al), tem a propriedade de corar ácidos nucléicos (GILL et al., 1974). A coloração das radículas será mais intensa nos genótipos susceptíveis, pois maior quantidade de Al estará no interior das células (MARTINES, 1977).

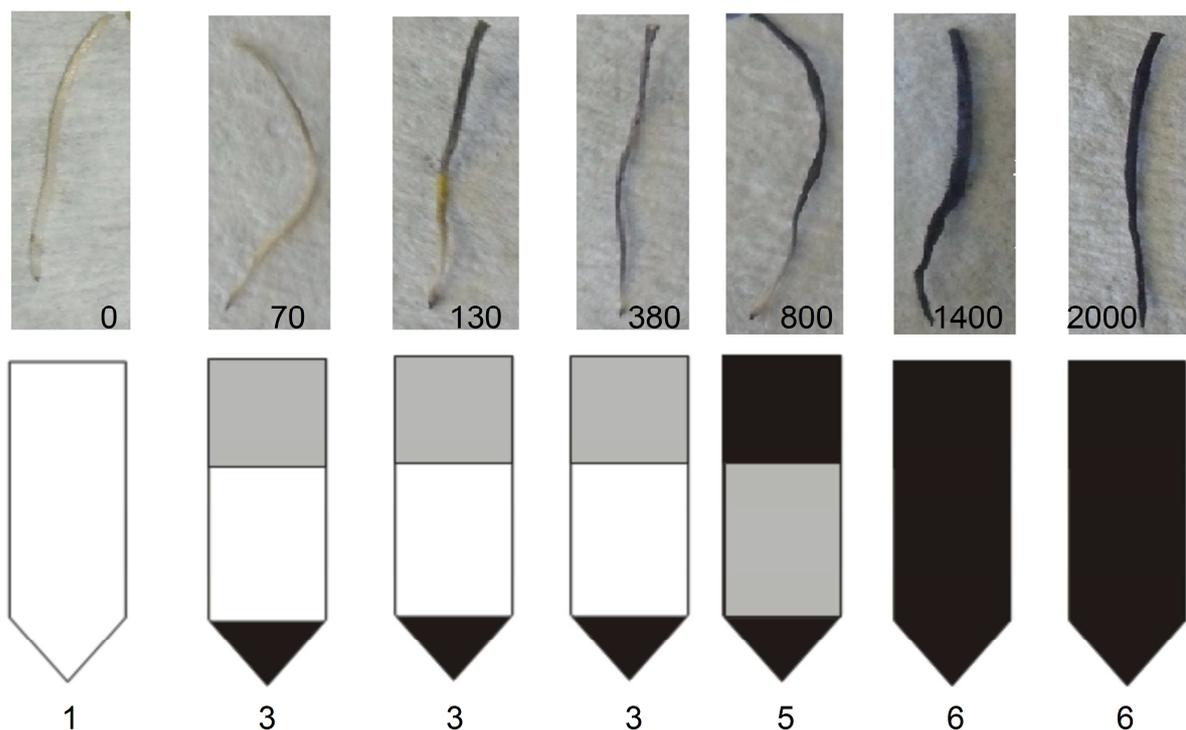
O uso do corante hematoxilina na coloração dos ápices radiculares das variedades de cana-de-açúcar possibilitou diferenciar a influência de doses crescentes de Al em solução, tanto por meio da observação dos danos às raízes, quanto pela indicação da penetração do Al no tecido radicular, representada pelo aumento da intensidade de coloração que acompanhou o aumento da concentração de Al em solução. Como esperado, as raízes submetidas às maiores concentrações de Al receberam as maiores notas, já que a coloração das raízes tornou-se mais intensa nas plântulas crescidas nas doses de 800, 14000 e 2000  $\mu\text{M.L}^{-1}$ , nas três variedades estudadas (figuras 12, 13 e 14). As notas, dentro da escala numérica que representou a intensidade de coloração e a localização do Al no ápice radicular, foram semelhantes para as três variedades estudadas. No entanto, o aspecto do ápice radicular da variedade RB855156, quando submetido à concentração de 800  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Al, pode receber a nota 4, o que apontou para a maior tolerância desta variedade quando comparada à RB935744 e à SP81-3250, que apresentaram mecanismos de exclusão de Al (notas 3 ou 4) até a concentração de 380  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Al e foram, por este critério, as variedades mais sensíveis ao Al em solução.



**Figura 12.** Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB855156 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).



**Figura 13.** Ápices radiculares de mini-toletes da variedade SP81-3250 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).

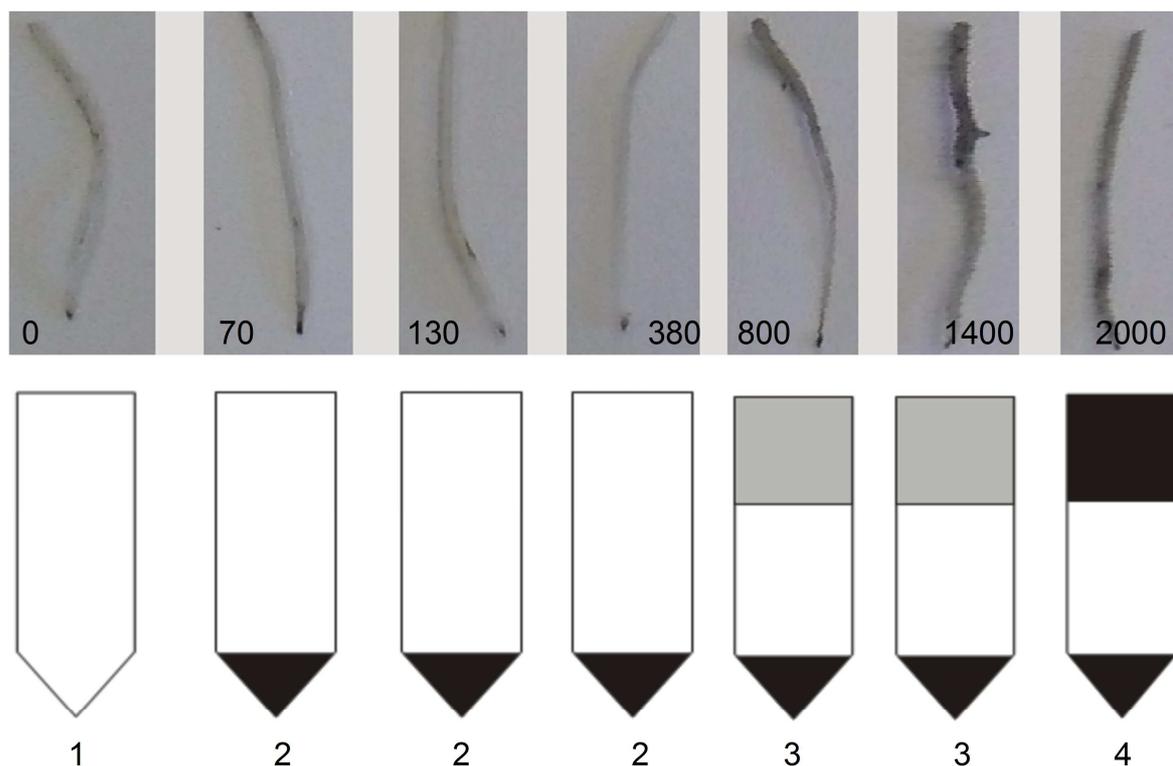


**Figura 14.** Ápicos radiculares de mini-toletes da variedade RB935744 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador hematoxilina, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).

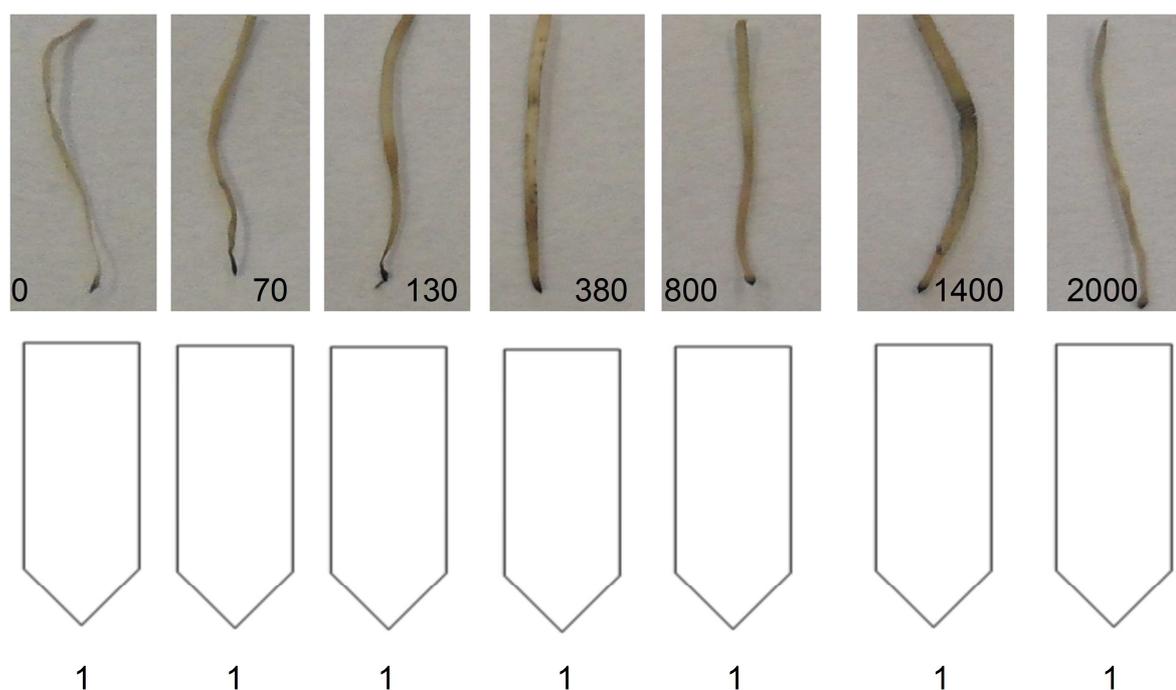
Uma correlação direta entre a tolerância ao  $Al^{+3}$  e a coloração das raízes com hematoxilina férrica foi relatada em diversos trabalhos da literatura (Polle et al., 1978; Delhaize et al., 1993; Wagatsuma et al., 1995).

### 5.1.2. MÉTODO DO CORANTE VIOLETA DE PIROCATECOL (VPC)

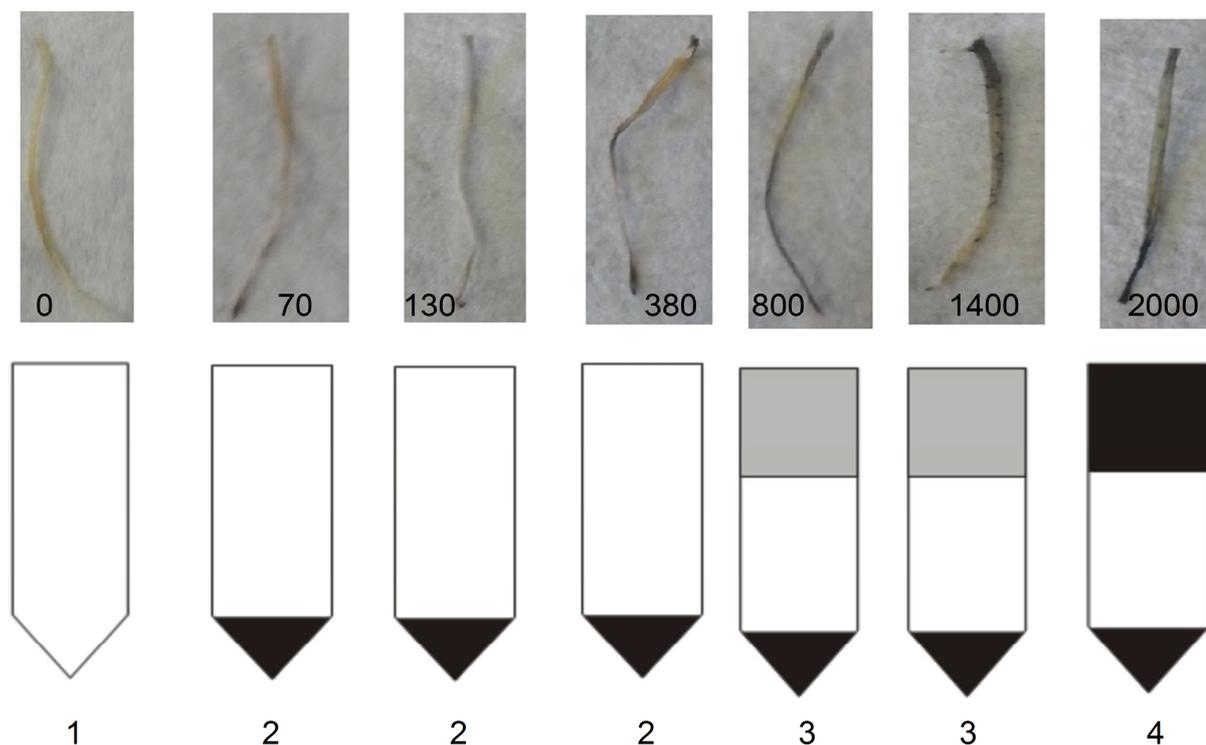
O método colorimétrico do violeta de pirocatecol forma compostos com muitos metais e os mais estáveis destes complexos são formados no intervalo de pH 2,0 a 6,0. O violeta de pirocatecol é um agente quelante para alguns metais e, no caso do Al, forma-se um complexo muito solúvel em água, o que pode ter sido a razão de sua ineficácia para indicar a presença do Al nos tecidos radiculares de mini-toletes das variedades de cana-de-açúcar utilizadas neste estudo (figuras 15, 16 e 17).



**Figura 15.** Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB855156 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).



**Figura 16.** Ápices radiculares de mini-toletes da variedade SP81-3250 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a)



**Figura 17.** Ápices radiculares de mini-toletes da variedade RB935744 de cana-de-açúcar, submetidos a concentrações crescentes de Al em solução e ao corante indicador violeta de pirocatecol, e sua representação na escala de avaliação do acúmulo de Al proposta por Braccini et al. (2000a).

As notas dentro da escala numérica que representou a intensidade de coloração e a localização do Al no ápice radicular foram pouco consistentes quando comparadas àquelas obtidas para o corante hematoxilina e não permitiram resultados conclusivos. As maiores concentrações de Al em solução geraram coloração compatível com notas 3 e 4 que, segundo Braccini et al. (2000a), indicam mecanismos de exclusão de Al. As notas foram semelhantes para as duas variedades RB, as quais foram interpretadas como mecanismos de exclusão de Al, pelo fato de, em alguns tratamentos, existirem partes das raízes com ausência de coloração. Entretanto, o violeta de pirocatecol não resultou em coloração das raízes da variedade SP, cujos ápices radiculares receberam nota 1 para toda a faixa de concentração de Al estudada. Uma hipótese para explicar o baixo desempenho do método seria a formação de um elevado teor de ácidos orgânicos nos tecidos radiculares, interferindo na formação do complexo responsável pelo desenvolvimento da cor pelo violeta de pirocatecol, como foi observado por Ebeling (2006) em seu estudo de acidez em ORGANOSSOLOS.

### 5.1.3. ANÁLISE COMPARATIVA DA EFICIÊNCIA DE CORANTES INDICADORES DA PRESENÇA DE Al EM TECIDOS RADICULARES DE CANA-DE-AÇÚCAR

Embora o princípio do potencial indicador dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol seja semelhante, ou seja, a formação de complexos com elementos metálicos, os indicadores apresentaram diferenças na coloração dos ápices radiculares para as variedades de cana-de-açúcar e para as concentrações de Al em solução usadas neste trabalho. O emprego da escala de avaliação do acúmulo de Al em raízes preconizado por Braccini et al. (2000a) revelou que não houve relação entre os resultados obtidos pelo uso da hematoxilina e do violeta de pirocatecol (tabela 4).

**Tabela 4.** Potencial indicador dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol conforme a escala de avaliação do acúmulo de Al em ápices radiculares sugerida por Braccini et al. (2000a).

[Al]	RB855156			SP81-3250			RB935744	
( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	HX	VPC		HX	VPC		HX	VPC
0	<b>1</b>	<b>1</b>		<b>1</b>	<b>1</b>		<b>1</b>	<b>1</b>
70	<b>3</b>	<b>2</b>		<b>3</b>	<b>1</b>		<b>3</b>	<b>2</b>
130	<b>3</b>	<b>2</b>		<b>3</b>	<b>1</b>		<b>3</b>	<b>2</b>
380	<b>3</b>	<b>2</b>		<b>3</b>	<b>1</b>		<b>3</b>	<b>2</b>
800	<b>4</b>	<b>3</b>		<b>5</b>	<b>1</b>		<b>5</b>	<b>3</b>
1400	<b>5</b>	<b>3</b>		<b>5</b>	<b>1</b>		<b>6</b>	<b>3</b>
2000	<b>6</b>	<b>4</b>		<b>6</b>	<b>1</b>		<b>6</b>	<b>4</b>

HX – hematoxilina; VPC – violeta de pirocatecol; números em negrito indicam tolerância ao Al em solução, conforme a escala da Figura 11 (Braccini et al., 2000a)

Os resultados obtidos pelo uso da hematoxilina como indicador da presença do Al no tecido radicular se adequaram a interpretação de Braccini et al. (2000a), Como a hematoxilina permitiu maior variação de coloração, resultando em ampla variação na escala numérica de Braccini et al. (2000a) que permite apontá-la como o corante mais sensível às variações de Al no tecido radicular. No entanto, entende-se que há inconsistência nessa afirmação pela ausência de um método que seja considerado padrão.

Por outro lado, a interpretação dos resultados obtidos para o corante violeta de pirocatecol indica que as variedades RB foram tolerantes à concentração mais alta de Al em solução, ou seja,  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Al. Este método não permitiu a interpretação para a variedade SP, já que, para toda a faixa de concentração de Al, a aparência dos ápices radiculares relacionou-se com a nota 1 da escala.

Existe muita limitação em correlacionar a quantidade de Al presente na célula com a intensidade da coloração produzida pelos corantes, pois, de acordo com Clark & Krueger (1985), a intensidade da cor é influenciada pelo tipo de célula, pH intracelular, temperatura da reação, entre outras interferências ainda não conhecidas.

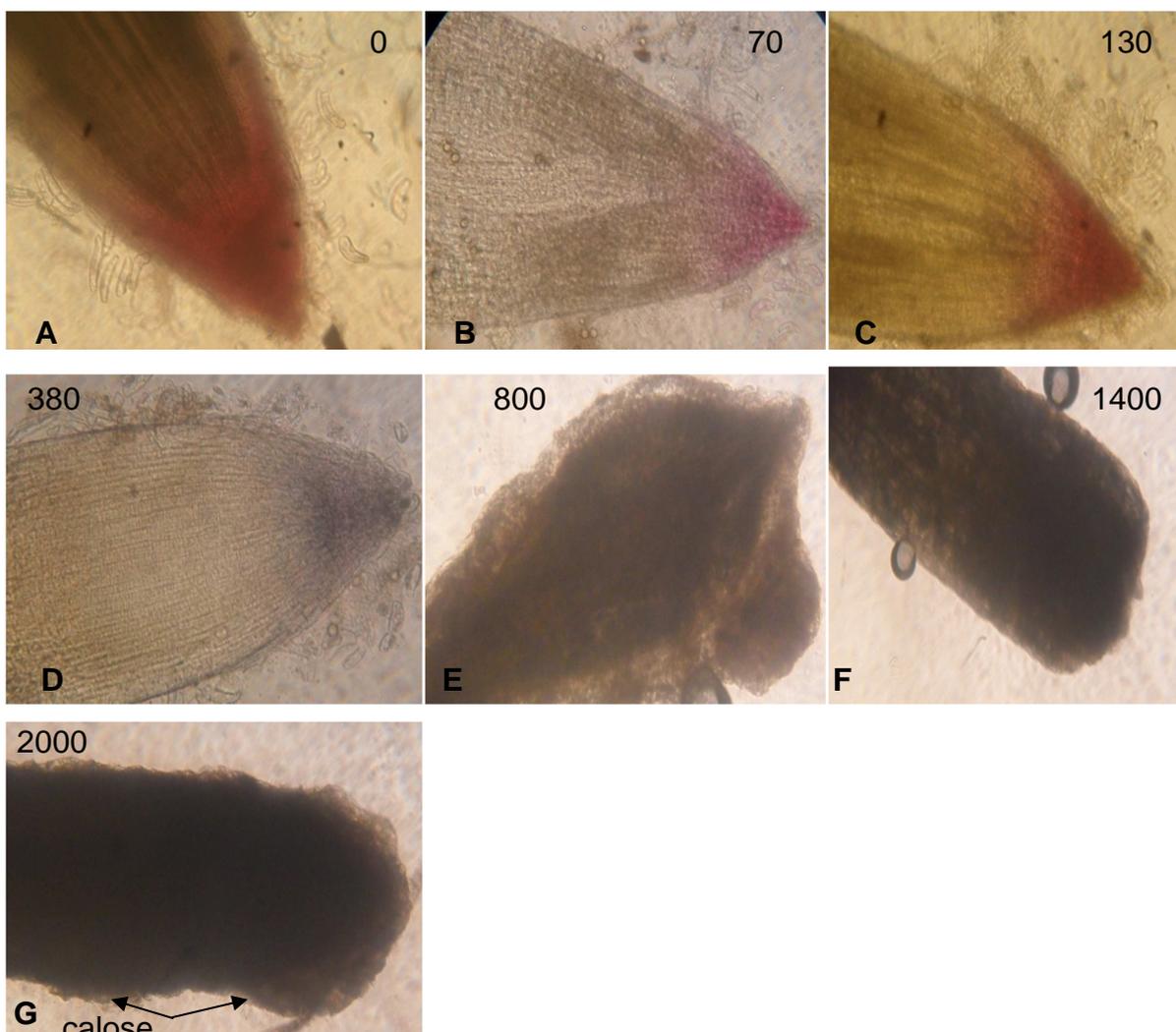
## **5.2 MICROSCOPIA ÓPTICA DE ÁPICES RADICULARES DE MINI-TOLETES DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR Al**

Para ilustração dos efeitos do  $\text{Al}^{3+}$  sobre a morfologia externa dos ápices radiculares, amostras das variedades de cana-de-açúcar foram seccionadas, lavadas e observadas em microscópio óptico, após 6 dias de permanência em solução nutritiva contendo doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e  $2000 \mu\text{mol de Al L}^{-1}$ ).

Os tecidos celulares da coifa das raízes das variedades RB855156 (figura 18 E, F e G) e SP81-3250 (figura 19 E, F e G) foram os mais afetados, principalmente a partir das concentrações de  $\text{Al} \geq 800 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Como a coifa tem a função de proteger o meristema apical de lesões mecânicas (TAIZ & ZEIGER, 2004), sobretudo pela excreção de mucilagens, sua deterioração prejudicou o meristema apical das raízes dessas duas variedades. Utilizando microscopia eletrônica, Eleftheriou et al. (1993) também observaram que os efeitos mais intensos da toxicidade causada pelo  $\text{Al}^{3+}$  no sistema radicular ocorrem nas paredes celulares da epiderme e nas células da coifa.

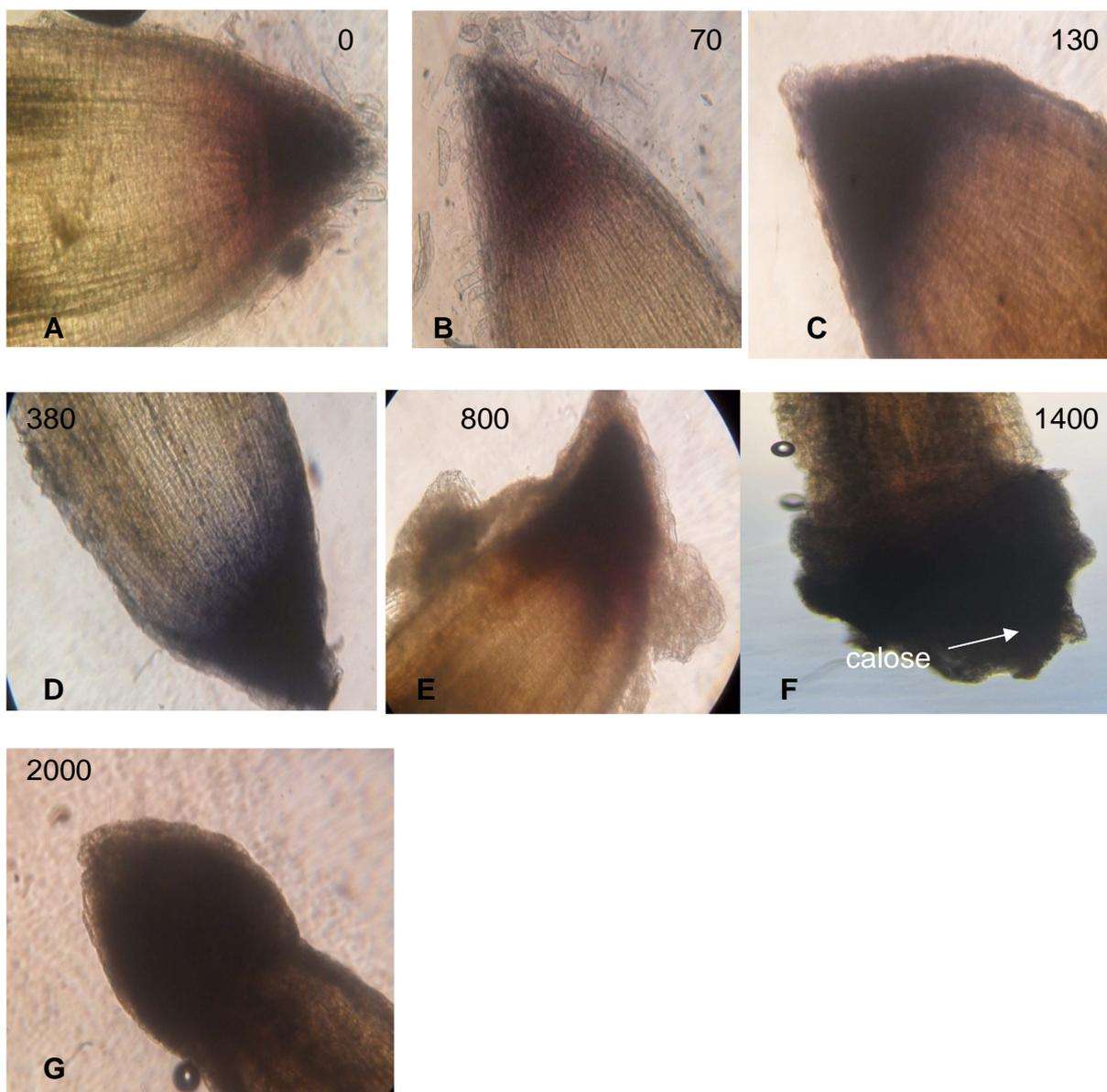
A variedade RB855156 (figura 18) foi a variedade que mais sofreu deformação nas células da coifa das raízes. O Al em solução foi danoso às raízes nas concentrações de 800, 1400 e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ . A coifa e a zona de alongamento foram totalmente destruídas nas duas concentrações mais altas de Al. Houve

diminuição no tamanho da coifa e formação de calose a partir da concentração de  $800 \mu\text{mol L}^{-1}$ , evoluindo com o aumento das doses. Calose é um acúmulo de poliglicosídeo na parede celular em resposta das plantas a diversos tipos de estresses (TAIZ & ZEIGER, 2004).



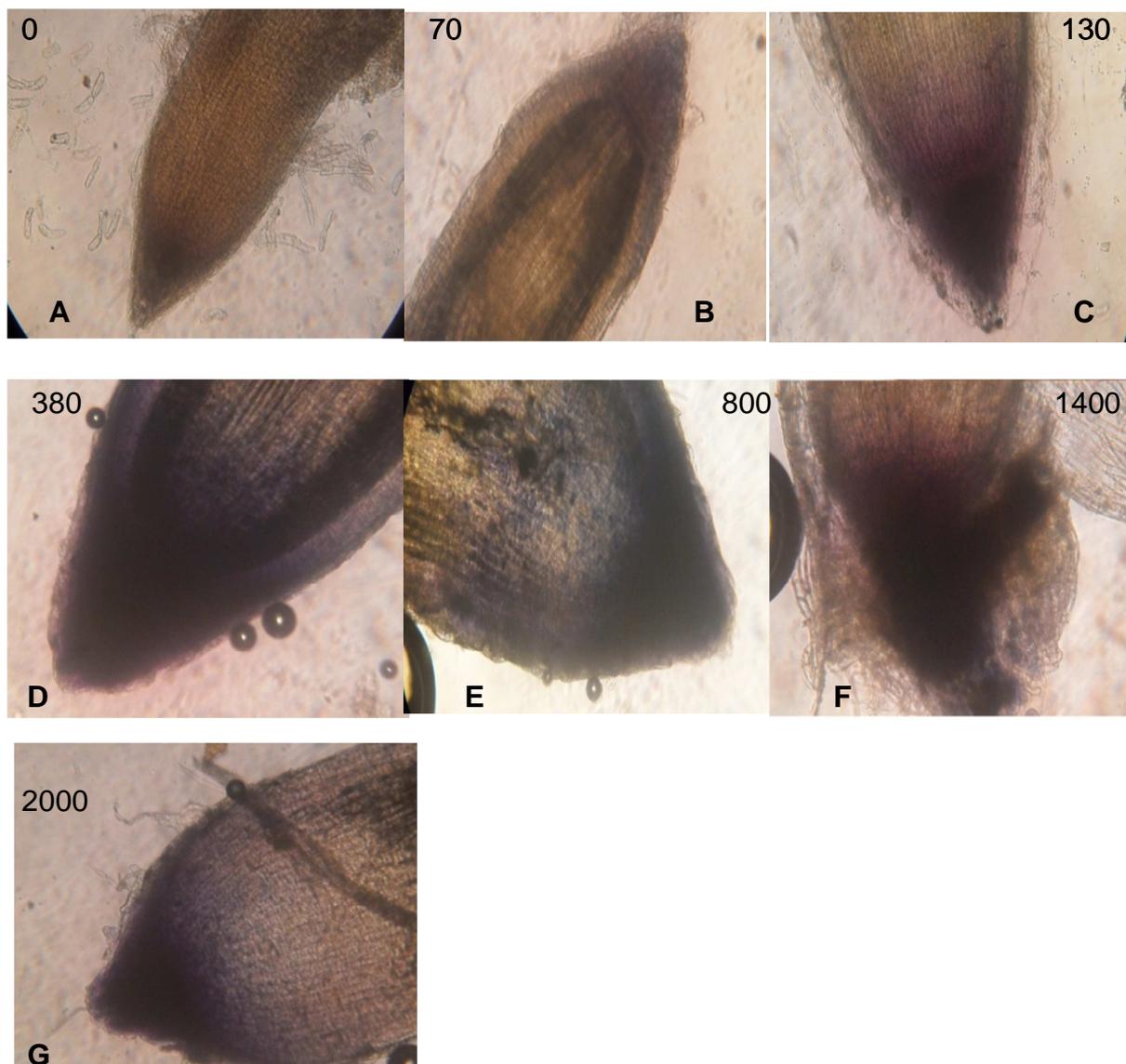
**Figura 18.** Ápices radiculares da variedade RB855156 em microscópio óptico (ampliação 10 x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente.

A variedade SP81-3250 teve destruição da coifa e formação de calose nas concentrações de  $1400$  e  $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Al (figura 19), demonstrando maior tolerância ao Al quando comparada à variedade RB855156.



**Figura 19.** Ápices radiculares da variedade SP81-3250 em microscópio óptico (ampliação 10x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente.

A variedade RB935744 (figura 20) não apresentou deformação nas células da coifa, nem a formação de calose, mesmo quando seus mini-toletes foram expostos às maiores doses de Al, sugerindo que esta variedade apresente algum mecanismo de tolerância ao estresse causado por este elemento.



**Figura 20.** Ápices radiculares da variedade RB935744 em microscópio óptico (ampliação 10x) após exposição a doses crescentes de Al (0, 70, 130, 380, 800, 1400 e 2000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), representadas por A, B, C, D, E, F e G respectivamente.

Kochian (1995) e Sivaguru & Horst (1998) constataram que, após a exposição à concentrações mais elevadas de Al, ocorrem rapidamente atrofia e injúrias no meristema radicular, especificamente na parte distal da zona de transição no ápice das raízes, onde as células estão entrando em fase de alongamento, que é o sítio da ação tóxica do Al.

A calose é um indicador particular de sensibilidade à toxidez causada pelo Al que pode ser prontamente observada através de microscópio (figura 19). Kauss

(1989) associou a rizodeposição de calose à injúrias da membrana plasmática, já que Wagatsuma et al. (1988) relataram que o Al é conhecido por danificar estas estruturas. A deposição de calose foi correlacionada com a presença de Al nas raízes de *Glycine max* (Wissemeier et al., 1992) e de *Picea abies* (Jorns et al., 1991). De acordo com Kauss (1990), policátions, poliaminas e  $Al^{3+}$  são promotores potenciais da síntese de calose. Esses policátions se ligam às cargas negativas da superfície de membrana causando um decréscimo de fluidez.

Além da produção de calose, as raízes afetadas pelo Al apresentaram mudanças estruturais na coifa, bem como mudanças na curvatura da raiz, ou seja, um conjunto de sintomas muito semelhante ao observado por Eleftherios et al (1993). Constatou-se também que, após exposição das plantas ao  $Al^{3+}$  por 6 dias, houve atrofiamento e desintegração de tecidos da epiderme nos ápices das raízes das três variedades, nas concentrações de 1400 e 2000  $\mu mol L^{-1}$ . Resultados similares foram observados por Wagatsuma et al. (1995), em raízes de ervilha, por Delima e Copeland (1994), em raízes de trigo, e por Lenoble et al.(1996), em raízes de abóbora.

Keser et al. (1977), trabalhando com beterraba açucareira, demonstraram a ocorrência de graves anomalias morfológicas nas zonas de crescimento radicular em variedades sensíveis ao Al. Observaram que células corticais, cultivadas em 8 a 12  $mg L^{-1}$  de Al, eram grandes, anormais e irregularmente divididas, além de apresentarem desintegração na região da coifa e do córtex, tornando a região apical indistinguível (figuras 18 e 19).

O atrofiamento do sistema radicular pode ser associado ao efeito direto da toxidez por Al (SCOTT et al., 1992; DELHAIZE & RYAN, 1995) embora em determinadas condições de meio de crescimento, como em solução nutritiva, o efeito do íon hidrogênio também pode causar toxidez, principalmente nas condições de baixo pH ( $\cong 4,0$ ) necessárias para o predomínio da espécie trivalente livre de Al.

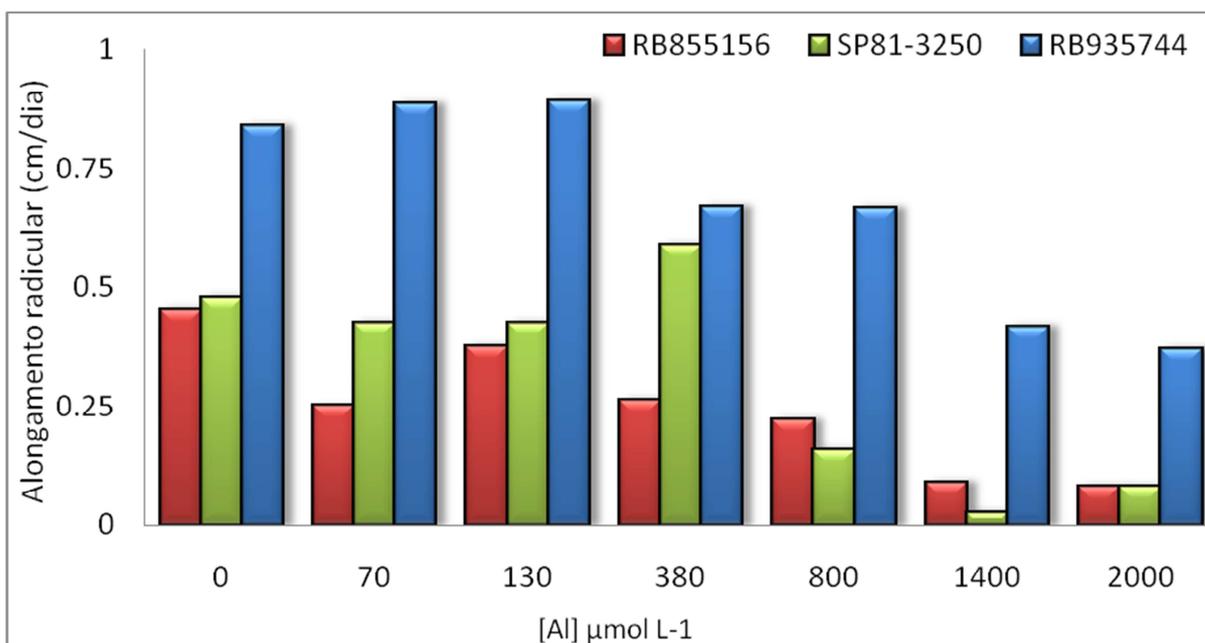
Evans & Kamprath (1970) demonstraram que diferenças consistentes na tolerância ao Al são encontradas entre espécies de plantas e entre cultivares da mesma espécie. É consensual que a cana-de-açúcar é relativamente tolerante à acidez do solo quando comparada à outras espécies vegetais de interesse

econômico (ARAÚJO FILHO et al., 1980; VIANA et al., 1983). Entretanto, ainda não existe um índice ou valor que defina a concentração crítica do Al no solo e que provoca toxicidez às plantas. Esta dificuldade é decorrente da inconsistência entre os diferentes resultados experimentais, em razão das diferenças genéticas entre as espécies testadas, os solos e os protocolos experimentais (QUAGGIO, 2000).

### 5.3 TAXAS DE ALONGAMENTO RADICULAR

As variedades RB855156, SP81-3250 e RB935744 de cana-de-açúcar apresentaram decréscimo na taxa de alongamento radicular quando submetidas a concentrações crescentes de Al em solução. A variedade RB935744 destacou-se quanto à tolerância ao Al em solução, enquanto as variedades RB855156 e SP81-3250 foram mais sensíveis (Figura 21).

**Figura 21.** Comparação das taxas de alongamento radicular de mini-toletes de diferentes variedades de cana-de-açúcar submetidos a concentrações crescentes de Al em solução.



Os resultados da taxa de alongamento radicular foram submetidos à análise de variância (Tabela 5) para atestar a consistência das constatações feitas a partir da figura 21.

**Tabela 5.** Resumo da análise de variância (ANOVA) de taxa de alongamento radicular de mini-toletes de variedades de cana-de-açúcar submetidos à concentrações crescentes de Al em solução.

Fonte de variação	GL	Valor F
Variedades	2	25,60**
Concentrações de Al	6	6,18**
Variedades x Al	12	0,67 ns
Resíduo	144	
Total	164	

\*\*significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \*significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); ns não significativo ( $p \geq 0,05$ )

Houve alta significância estatística para a influência isolada dos fatores testados (Tabela 5). Portanto, o teste de comparação de médias (*Tukey* a 5%) foi aplicado somente para variedades (Tabela 6) e para concentração de Al em solução (Tabela 7). Não foi aplicado o teste de comparação de médias para a interação dos fatores, já que, pelo teste *F*, não houve significância estatística (Tabela 5).

**Tabela 6.** Média geral da taxa de alongamento radicular de mini-toletes, de cada variedade de cana-de-açúcar, submetidos ao Al em solução.

Variedades	Médias da taxa de alongamento radicular (cm dia <sup>-1</sup> )
RB855156	0,249 a
SP81-3250	0,323 a
RB935744	0,677 b
DMS = 0,154	

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de *Tukey* a 5%

A variedade RB935744 apresentou taxa de crescimento radicular estatisticamente superior às variedades RB855156 e SP81-3250, implicando em maior tolerância da primeira e maior sensibilidade das demais ao Al em solução.

**Tabela 7.** Médias de taxa de alongamento radicular de mini-toletes de variedades de cana-de-açúcar em resposta à cada concentração de Al em solução.

Concentrações de Al em solução	Médias da taxa de alongamento radicular
$\mu\text{mol L}^{-1}$	( $\text{cm dia}^{-1}$ )
0	0,588 a
70	0,525 a
130	0,565 a
380	0,509 ab
800	0,341 abc
1400	0,174 c
2000	0,215 bc

DMS = 0,297

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Decréscimos significativos na taxa de alongamento radicular foram observados a partir da concentração de  $1400 \mu\text{mol Al L}^{-1}$  (Figura 21 e Tabela 7), considerado, neste estudo, valor crítico a partir do qual tem início a influência do Al sobre o desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar. Hetherington et al. (1988) estudaram a sensibilidade ao Al em solução das variedades Q77, Q113 e Q117, amplamente cultivadas em solos ácidos da Austrália. Segundo os autores, o alongamento radicular da variedade Q113 foi significativamente reduzido quando exposta a  $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ , enquanto as variedades mais tolerantes, Q77 e Q117, tiveram o desenvolvimento radicular negativamente afetados a partir da concentração  $320 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Neste contexto, as variedades brasileiras RB855156, SP81-3250 e RB935744 são mais tolerantes ao Al em solução quando comparadas às variedades australianas Q77, Q113 e Q117.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foram testados três métodos para estimar a sensibilidade de primórdios radiculares de variedades de cana-de-açúcar a concentrações crescentes de Al em solução. A escala numérica de avaliação do acúmulo de Al em raízes preconizada por Braccini et al. (2000a), e que teve sua aplicação bem-sucedida no estudo com plantas de cafeeiro, auxiliou na interpretação do comportamento de variedades de cana-de-açúcar expostas ao Al em solução. No entanto, várias

inconsistências foram observadas no ajuste da escala para cana-de-açúcar, principalmente porque sua construção dependeu do potencial dos corantes hematoxilina e violeta de pirocatecol em indicar a o acúmulo e a localização do Al nos ápices radiculares. No entanto, foi evidente que a hematoxilina se destacou sobre o violeta de pirocatecol no que se refere a indicar com clareza a penetração do Al nos tecidos radiculares. Mesmo que a hematoxilina tenha sido considerada mais adequada que o violeta de pirocatecol para os propósitos deste estudo, tanto Ryan et al. (1993) quanto Braccini et al. (1996) ressaltaram que o teste com hematoxilina não deve ser aplicado isoladamente para discriminação entre genótipos tolerantes ou sensíveis ao Al em solução. De fato, a observação dos ápices radiculares ao microscópio óptico revelou aspectos adicionais da alteração radicular na presença do Al, sobretudo da coifa, o que incluiu a formação da calose, considerado neste estudo um importante indicador visual da sensibilidade das raízes ao Al. A interação entre os aspectos visuais obtidos da microscopia e da coloração com indicadores constituiu um artifício complementar importante na interpretação dos efeitos do Al sobre as raízes. A biometria das raízes foi o parâmetro mais consistente para avaliar o efeito de concentrações crescentes de Al em solução sobre o sistema radicular. A interpretação dos resultados de taxa de alongação radicular indicou que danos significativos aos primórdios radiculares dos mini-toletes de cana-de-açúcar se iniciaram a partir da concentração  $1400 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ , o que corresponde à concentração  $4,2 \text{ mmol}_c$  de Al disponível na solução do solo.

Embora os experimentos de laboratório contribuam na elucidação do comportamento vegetal perante a situações diversas de estresse, é preciso reconhecer a dificuldade de sua aplicação direta na forma de recomendação para o setor produtivo. Assim, este estudo também aponta para a necessidade de continuidade de experimentos com cana-de-açúcar em condições de casa-de-vegetação e, principalmente, em condições de campo.

O referencial teórico e experimental sobre a tolerância de variedades de cana-de-açúcar a condições adversas de acidez extrema e, principalmente, a alta saturação por Al, ainda é inconclusivo. No entanto, a identificação dos genótipos mais tolerantes à estas condições de estresse contribui para a síntese de variedades por processos biotecnológicos em programas de melhoramento genético, para a devida alocação das variedades no campo e para a condução de sistemas sustentáveis de produção.

## 7. CONCLUSÕES

Para as variedades RB855156, SP81-3250 e RB935744 e nas condições experimentais em que este estudo foi conduzido, concluiu-se que:

- o aumento da concentração de Al em solução causou diminuição da taxa de alongamento radicular ( $\text{cm dia}^{-1}$ );
- a concentração crítica de Al em solução, e que iniciou os processos de deterioração do ápice radicular, foi de  $1400 \mu\text{mol Al L}^{-1}$ , independentemente da variedade;
- as principais alterações morfológicas das raízes, a partir da concentração crítica de  $1400 \mu\text{mol Al L}^{-1}$  em solução, foram a produção de calose e o colapso e a deformação da coifa;
- o corante hematoxilina foi mais eficiente do que o violeta de pirocatecol para indicar o acúmulo e localização de Al no tecido radicular, mas não permitiu a elaboração de uma escala numérica para sua interpretação;
- os resultados combinados de biometria, coloração e microscopia óptica das raízes indicaram que a seqüência de tolerância das variedades de cana-de-açúcar ao Al em solução foi RB935744 (tardia) > SP81-3250 (médio) > RB855156 (precoce), podendo estar correlacionada com o ciclo das variedades.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU JR., C.H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A.F. *Relationship between acidity and chemical properties of Brazilian soils*. Scientia Agricola, v.60, n.2, p.337-343, 2003.
- ABU-ZEID, M.O. *Root cation exchange capacity of sugarcane: an evaluation of methods*. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.26, n.7, p.915-922, 1975.
- ABU-ZEID, M.O. *Root properties of sugarcane in relation to nutrient uptake*. Soil Science Society of America Journal, v.43, p.736-740, 1979.
- ALVAREZ, I.A.; CASTRO, P.R. DE C. E; NOGUEIRA, M.C.S. *Crescimento de raízes de cana crua e queimada em dois ciclos*. Scientia Agricola, v.57, n.4, p.653-659, 2000.
- ANDERSON, D. L.; BOWEN, J.E. *Sugarcane nutrition*. Atlanta, G.A.: Potash and Phosphate Institute, 1990. 53p.
- ARAÚJO FILHO, J.T. et al. *Comportamento da soja (Glycine SP.) sob diferentes teores de alumínio no solo em casa de vegetação*. Rio Largo; IAA/PLANALSUCAR. COONE, 1980. Trabalho apresentado na Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo, Cuiabá, 1980.
- ARCHAMBAULT, D .J.; ZHANG, G.; TAYLOR, G. J. *Accumulation of Al in root mucilage of Al-resistant and Al-sensitive cultivar of wheat*. Plant Physiology Rockville, v. 112, n. 4, p. 1471-1478, 1996.
- ARMIGER, W. H.; FOY, C. D.; FLEMING, A.L. & CALDWELL, B. E. *Differential tolerance of soybean varieties to an acid soil high in exchangeable*. Agron. J. 60, 67-71. 1968.
- BENEDINI, M.S.; KORNDÖRFER, G.H. *Avaliação de critérios para recomendação de calcário em cana-de-açúcar*. Revista STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos, v. 10, n. 3, p. 20-25, 1992.
- BITTENCOURT, V.C.; CARMELLO, Q.A.C.; BEAUCLAIR, E.G.F.; JOÇO, J.; CLEMENTE, J.L. *Produtividade da cana-de-açúcar e suas relações com a fertilidade dos solos e o manejo da cultura*. STAB – Açúcar, Álcool & Subprodutos, v.8, p.10-14, 1990.
- BLAMEY, F.P.C.; EDMEADES, D.C.; WHEELER, D.M. *Empirical models to approximate calcium and magnesium ameliorative effects and genetic differences in aluminium tolerance in wheat*. Plant and Soil, v.144, p.281-287, 1992.

BRACCINI, A.L. et al. *Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol*. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, 1996.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; BRACCINI, A.L. *Avaliação de linhagens de cafeeiros quanto à tolerância ao alumínio pelo método do papel-solução*. Bragantia, v.59, n.2, p.221-226, 2000a.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; SILVA, E.A.M.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. *Crescimento da planta e coloração das raízes com hematoxilina como critérios de avaliação de genótipos de café quanto à tolerância à toxidez por alumínio*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.24, p.59-68, 2000b.

BRENES, E. & PEARSON, R. W. *Root responses of three gramineae species to soil acidity in an oxisol and an ultisol*. Soil Sci. 116: 295-302, 1973.

CANÇADO, G. M. A.; OLIVEIRA, A. B.; PAIVA, E.; CARNEIRO, N. P. & LOPES, M. A. *Prospecção de genes relacionados à tolerância ao alumínio em gramíneas*. Resumos do Congresso FertBio 98. Caxambu-MG, 1998.

CANÇADO, G. M. A.; LOPES, M. A.; PAIVA, E. *Genética e bioquímica da tolerância de plantas ao alumínio*. In: Siqueira, J. O.; Moreira, F M. S.; Lopes, A. S.; Guilherme, L. R. G.; Faquin, V.; Furtini Neto, A. E.; Carvalho, J. G. *Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Lavras: UFLA/DCS, p. 363-388, 1999.

CAMARGO, C.E. DE O.; FELÍCIO, J.C.; ROCHA JÚNIOR, L.S. *Trigo: tolerância ao alumínio em solução nutritiva*. Bragantia, v.46, n.2, p.183-190, 1987.

CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A.O.; SANT'ANNA, R. *Método simples para a avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio*. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.3, p.87-95, 1991.

CARVER, B.F.; OWNBY, J.D. *Acid soil tolerance in wheat*. Advances in Agronomy, v. 54, p.117-173, 1995.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento safra 2007/2008*. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3lev-cana.pdf>. Acesso em: 12 março de 2008.

CLARK, R.A., KRUEGER, G.L. *Aluminon: Its limited application as a reagent for detection of aluminium species*. J. Histochem. Cytochem., v.33, 1985.

COMETTI, N.N.; FURLANI, P.R.; RUIZ, H.R.; FERNANDES FILHO, E.I. *Soluções nutritivas: formulações e aplicações*. In: Fernandes, M.S. (Ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.89-114. 2006

COSTA, M.C.G.; MAZZA, J.A.; VITTI, G.C.; JORGE, L.A. DE C. *Distribuição radicular, estado nutricional e produção de colmos e de açúcar em soqueiras de dois*

*cultivares de cana-de-açúcar em solos distintos*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.31, p.1503-1514, 2007.

CROOKE, W.M. *The measurement of the cation exchange capacity of plant roots*. Plant and Soil, v.21, n.1., p.43-49, 1964.

DAL BÓ, M.A.; RIBEIRO, A.C.; COSTA, L.M.; THIÉBAULT, J.T.L.; NOVAIS, R.F. *Efeito da adição de diferentes fontes de cálcio em colunas de solo cultivadas com cana-de-açúcar*. I. Movimentação de bases no solo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.10, p.195-198, 1986a.

DAL BÓ, M.A.; RIBEIRO, A.C.; COSTA, L.M.; THIÉBAULT, J.T.L.; NOVAIS, R.F. *Efeito da adição de diferentes fontes de cálcio em colunas de solo cultivadas com cana-de-açúcar*. II. Respostas da planta. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.10, p.231-234, 1986b.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R.; RANDALL, P. J. *Aluminum tolerance in wheat (Triticum aestivum L.): II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices*. Plant Physiology, Rockville, v. 103, p. 695-702, 1993.

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

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

DEMATTE, J.L.I. *Cultura da cana-de-açúcar: recuperação e manutenção da fertilidade dos solos*. Encarte Informações Agrônomicas Potafos, n.111, p.1-24, 2005.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; PIVETTA, J.P.; FRACASSO, J.V. *Economic injury level for sugarcane caused by the spittlebug Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera:Cercopidae)*. Scientia Agrícola, v.65, n.1, p.16-24, 2008.

DORNELLES, A.L.C., CARVALHO, F.I.F., FEDERIZZI, L.C., et al. *Avaliação de genótipos de trigo hexaplóide quanto a tolerância ao alumínio*. Ciência Rural, Santa Maria, v.26, p.19-22, 1996.

EBELING, A.G. *Caracterização analítica da acidez em organossolos*. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2006

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

ETICHA, D.; STAB, A.; HORST, W.J. *Localization of aluminium in the maize root apex: can morin detect cell wall-bound aluminium?* Journal of Experimental Botany, v. 56, n. 415, p. 1351-1357, 2005.

EVANS, E.E; KRAMPRATH, E.J. *Lime response as relates to percent Al saturation, solution Al and organic matter content*. Soil Science of America Proceedings, Madison, v.34, p.893-896, 1970

EVANS, H. *The root system of sugarcane: an evaluation of its salient features*. Indian Journal of Sugarcane Research Development, v.8, p.161–171, 1964.

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

FERREIRA, R. DE P.; MOREIRA, A.; RASSINI, J.B. *Toxidez de alumínio em culturas anuais*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, Documentos 63, 2006. 35p.

FERRO, M.I.T.; BARROS, N.M. DE; DABBAS, K.M.; LAIA, M.L. DE; KUPPER, K.C; MORAES, V.A. DE; OLIVEIRA, J.C.F. DE; FERRO, J.A.; ZINGARETTI, S.M. *Análise do perfil de expressão dos genes da cana-de-açúcar envolvidos na interação com Leifsonia xyli subsp: xyli*. Summa Phytopathologica, v.33, n.2, p.157-166, 2007.

FIDALSKI, J.; TORMENA, C.A. *Dinâmica da calagem superficial em um Latossolo Vermelho Distrófico*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.29, p.235-247, 2005.

FOY, C. D.; ARMIGER, W. H.; BRIGGLE, L. W. & REID, D. A. *Differential aluminum tolerance of wheat and barley varieties in acid soils*. Agron. J. 57, 413-417, 1965.

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

FOY, C.D. *Effects of aluminum on plant growth*. In: Carson, E.W. (Ed.). The plant root and its environment. Charlottesville: University Press of Virginia, 1997. p. 601-642.

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

FURLANI, P.R.; LIMA, M.; MIRANDA, L.T.; MIRANDA, L.E.C.; SAWASAKI, E.; MAGNAVACA, R. *Avaliação de linhagens, materiais comerciais e duas populações de milho para tolerância a alumínio*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.21, p.655-660, 1986.

GALVANI, E.; BARBIERI, V.; PEREIRA, A.B.; VILLA NOVA, N.A. *Efeitos de diferentes espaçamentos entre sulcos na produtividade agrícola da cana-de-açúcar (Saccharum spp.)*. Scientia Agrícola, v.54, n.1-2, p., 1997.

GILL, G. W.; FROST, J. K.; MILLER, K. A. *A new formula for half-oxidized hematoxylin solution that neither overstain nor requires differentiation*. Acta Cytologica, v. 18, p. 300-311, 1974.

HETHERINGTON, S.J.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C. *Comparative tolerance of sugarcane, navybean, soybean and maize to aluminum toxicity*. Australian Journal of Agricultural Research, v.39, n.2, p.171-176, 1988.

HOFFMAN, H.P.; SANTOS, E.G.D.; BASSINELLO, A.I.; VIEIRA, M.A.S. *Variedades RB de cana-de-açúcar*. 1. Ed. Araras: CCA/UFSCar, 2008. 30p.

JACOB NETO, J. *The interactions of H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> exchanges between roots and rhizosphere with plant nutrition and aluminium effects*. Dundee, 1993, 281p. PhD Thesis. University of Dundee.

JORNS, AC, C. Hecht-Buchholz and AH Wissemeier. 1991. 1991. *Aluminum-induced callose formation in root tips of Norway spruce ( Picea abies (L.) Karst.)*. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 154: 154: 349–353

KAUSS, H. *Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism*. Annual Review of Plant Physiology, Bethesda, v.38. p.47-72, 1987..

KAUSS, H. *Role of the plasma membrane in host-pathogen interaction*. In: Larsson, C., Moller, I.M. (eds.) *The plant plasma membrane, structure, function and molecular biology*. Berlin : Springer-Verlag, 1990. p.320-350.

KESER, M; NEUBAUER, B. F.; HUTCHINSON, F. E.; VERRIL, D.B. *Differential aluminum tolerance of sugarbeet cultivars, as evidenced by anatomical structure*. Agronomy Journal, v. 69,p. 347-350, 1977

KIKUI, S.; SASAKI, T.; MAEKAWA, M.; MIYAO, A.H.; HIROCHIDA, H.; MATSUMOTO, H.; YAMAMOTO, Y. *Physiological and genetic analyses of aluminium tolerance in rice, focusing on root growth during germination*. Journal of Inorganic Biochemistry, v.9, p.1837–1844, 2005.

KINRAIDE, T. B., ARNOLD, R.C. & BALIGAR, V. C. *A rapid assay for aluminium phytotoxicity at submicromolar concentrations*. Physiologia Plantarum, v. 65, p. 245-250,1985.

KLIMASHEVSKII, E. L.; CHERNYSHEVA, N. F. *Content of organic, acids and physiologically active compounds in plants differing in their susceptibility to the toxicity of Al<sup>3+</sup>*. Soviet Agricultural Sciences, Washington, v. 2, p. 5-8, 1980.

KOCHIAN, L.V. *Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants*. Ann. Rev. Plant Physiology, v.46, p.237-260, 1995.

KOFFLER, N.F. *A profundidade do sistema radicular e o suprimento de água às plantas no Cerrado*. Informações Agrônomicas Potafos, n.33, p.1-5, 1986.

KUVA, M. A. *Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana de açúcar. III -Capim-braquiária (Brachiaria decumbens) e capim-colonião (Panicum maximum)*. PlantaDaninha, v. 21, n. 1, p. 37-44, 2003.

LAGOS, M.B., FERNANDES, M.I.M., CAMARGO, C.E.O., et al. *Genetics and monosomic analysis of aluminum tolerance in wheat (Triticum aestivum L.)*. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, v.14, p.1011-1020, 1991.

LANDELL, M.G. DE A.; PINTO, L.R.; CRESTE, S.; XAVIER, I.A DOS; VASCONCELOS, A.C.M.; BIDÓIA, M.A.P.; SILVA, D.N. DA; SILVA, M. DE A. *Seleção de novas variedades de cana-de-açúcar e seu manejo de produção*. Encarte Informações Agronômicas Potafos, n.110, p.18-24, 2005.

LANDELL, M.G.A.; PRADO, H.; VASCONCELOS, A.C.M.; PERECIN, D.; ROSSETTO, R.; BIDÓIA, M.A.P.; XAVIER, M.A. *Oxisol subsurface chemical attributes related to sugarcane productivity*. Scientia Agricola, v.60, p.741-745, 2003.

LEE, E. H.; FOY, C. D. *Aluminum tolerances of two snapbean cultivars related to organic acid content evaluated by high performance liquid chromatography*. Journal of Plant Nutrition, New York, v. 9, p. 1481-1498, 1986.

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

MARINHO, M.L.; ARAÚJO FILHO, J.T. *Calibração do alumínio no solo para cana-de-açúcar em Alagoas*. Saccharum, v.6, n.26, p.18-23, 1983.

MARTINES, C. P. *Aluminum toxicity studies in rice. Tese (Doutorado) – Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA, 1977*.

MASCARENHAS, H. A. A.; CAMARGO, C. E. O. & FALIVENSE, S. M. P. *Efeito do alumínio sobre o crescimento de raízes de diferentes cultivares de soja*. Bragantia, 43: 191-200, 1994.

MATSUMOTO, H; MORIMURA, S. *Repressed template activity of chromatin of pea roots treated by aluminium*. Plant Cell Physiology, 21: 951-959, 1980.

MATTIELLO, E.M.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E.; MAURI, J.; MATIELLO, J.D; MEIRELES, P.G.; SILVA, I.R. *Da Produção de matéria seca, crescimento radicular e absorção de cálcio, fósforo e alumínio por Coffea canephora e Coffea arábica sob influência da atividade do alumínio em solução*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.32, p.425-434, 2008.

MAULE, R.F.; MAZZA, J.A.; MARTHA JR., G.B. *Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita*. Scientia Agricola, v.58, p.295-301, 2001.

MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGHINONI, I., BOHNEN, H. *Tolerância de genótipos de soja ao alumínio em solução*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n.11, p.2157-2166, 2000.

MIYASAKA, S. C.; BUTA, J. G.; HOWELL, R. K.; FOY, C. D. *Mechanism of aluminum tolerance in snapbeans: root exudation of citric acid*. Plant Physiology, Rockville, v. 96, p. 737-743, 1991.

MORELLI, J.; DALBEN, A.E.; ALMEIDA, J.O.C.; DEMATTÊ, J.L.I. *Calcário e gesso na produtividade de cana-de-açúcar e nas características químicas de um latossolo de textura média, álico*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 16, p. 187-194, 1992.

PEARSON, R.W. SOIL ENVIRONMENT AND ROOT DEVELOPMENT. IN: PIERRE, W. H.; KIRKHAM, D.; SHAW, R. J. *Plant environment and efficient water use*. American Society of Agronomy, p. 95-126, 1996.

PINTRO, J.; BARLOY, J.; FALLAVIER, P. *Uptake of aluminum by the root tips of an Al-sensitive and Al-tolerant cultivar of Zea mays*. Plant Physiology and Biochemistry, v.36, n.6, p.463-467, 1998.

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

PRADO, H. *do Ambientes de produção de cana-de-açúcar na região centro-sul do Brasil*. Encarte Informações Agrônomicas Potafos, n.110, p.12-17, 2005.

QUAGGIO, J.A. *Acidez e calagem em solos tropicais*. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2000. 111p.

QUITELA, M.J. et al. *Flow injection spectrophotometric method for the speciation of aluminium in river and tap waters*. Analyst, 1993.

RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2. ed. Campinas, Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 285p., 1996. (Boletim Técnico, 100).

RENGEL, Z. *Uptake of aluminium by plant cells*. New Phytol. v.116, p.389-406, 1996.

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 Experimental Botany, London, v. 44, n. 259, p. 437-446, 1993.

ROSSETTO, R.; SPIRONELLO, A.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. *Calagem para a cana-de-açúcar e sua interação com a adubação potássica*. *Bragantia*, v.63, p.105-119, 2004.

ROSSIELLO, R.O.P.; JACOB NETTO, J. *Toxidez de alumínio em plantas: novos enfoques para um velho problema*. In: Fernandes, M.S. (Ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.375-418.

SALDANHA, E.C.M.; ROCHA, A.T. DA; OLIVEIRA, E.C.A. DE; NASCIMENTO, C.W.A. DO; FREIRE, F.J. *Uso do gesso mineral em Latossolo cultivado com cana-de-açúcar*. *Caatinga*, v.20, n.1, 2007.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, J.H.; CAVALCANTI, F.J.A. *Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar:III. Conteúdo de nutrientes e distribuição do sistema radicular no solo*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.22, p.425-431, 1987.

SCARPARI, M.S.; BEAUCLAIR, E.G.F de *Sugarcane maturity estimation through edaphic-climatic parameters*. *Scientia Agricola*, v.61, p.486-491, 2004.

SCOTT, B. J.; FISCHER, J. A. & SPHOR, L. J. *Tolerance of australian wheat varieties to aluminum toxicity*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 23, n. 5/6, p. 509-526, 1992

SILVA, A.C. *Avaliação Da Tolerância ao Alumínio em Plântulas de Maracujazeiro e Mamoeiro*. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro, Rio De Janeiro, 2009.

SILVA, I.R. DA; FERRUFINO, A.; SANZONOWICZ, C.; SMYTH, T.J.; ISRAEL, D.W.; CARTER JÚNIOR, T.E. *Interactions between magnesium, calcium, and aluminum on soybean root elongation*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.29, p.747-754, 2005.

SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. *Physiological aspects of aluminum toxicity and tolerance in plants*. In: Alvarez V., V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F. de; Mello, J.W.V de; Costa, L.M. da. *Tópicos em Ciência do Solo*, v.II, p.277-335, 2002.

SIVAGURU, M. AND WJ HORST. *The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize*. *Plant Physiol.* *Plant Physiol.* 116:155–163, 1998.

SMITH, D.M.; INMAN-BAMBER, N.G.; THORBURN, P.J. *Growth and function of the sugarcane root system*. *Field Crops Research*, v.92, p.169–183, 2005.

SOBRAL, A.F. DE; GUIMARÃES, V.O.DA S. *Relação entre a toxidez do alumínio e a produção de cana-de-açúcar (Saccharum spp.)*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.27, n.2, p.287-292,1992.

SOUZA, C. N. A. de. *Classification of Brazilian wheat cultivars for aluminium toxicity in acid soils*. Plant Breeding, v.117, p. 217-221, 1998.

SUHAYDA, C.G. & HAUG, A. *Organic acids reduce aluminum toxicity in maize root membranes*. Physiol. Plant., 68 (2):189-195, 1986.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. P.449-484.

TAYLOR, G. J. *The physiology of aluminum tolerance in higher plants*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 19, p. 1179-1194, 1988.

TORQUATO, S.A. *Cana-de-açúcar para indústria: o quanto vai precisar crescer*. Análise e Indicadores do Agronegócio, v.1, n.10, 2006.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-Açúcar. *Produção de cana-de-açúcar e exportação de açúcar e etanol na safra 2009/2010*. Disponível em: <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica>. Acesso em: 25 março de 2010.

VASCONCELOS, A.C.M.; CASAGRANDE, A.A.; PERECIN, D.; JORGE, L.A.C.; LANDELL, M.G.A. *Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.27, p.849-858, 2003.

VASCONCELOS, A.C.M.; GARCIA, J.C. *Desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar*. Encarte Informações Agronômicas Potafos, n.110, p.1-5, 2005.

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

VIANA, A.R.; ANDRADE, L.A.B.; JUNQUEIRA NETO, A. *Efeito da calagem e tolerância a acidez em cem cultivares de cana-de-açúcar: Estudo preliminar*. Ciência e Prática, v.7, n.2, p.205-215,1983.

VITTI, G.C.; MAZZA, J.A. *Planejamento, estratégias de manejo e nutrição da cultura de cana-de-açúcar*. Encarte Informações Agronômicas Potafos, n.97, p.1-16, 2002.

VOSS, M.; SOUZA, C.N.A. DE; BAIER, A.C.; NASCIMENTO JÚNIOR, A.; BOFF, T. *Método de avaliação de tolerância à toxidez de alumínio em trigo, em condições de hidroponia*, na Embrapa Trigo. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 16 p.

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

WATANABE, T.; OKADA, K. *Interactive effects of Al, Ca and other cations on root elongation of rice cultivars under low pH*. Annals of Botany, v.95, p.379-385, 2005.

WENZL, P.; MANCILLA, L. I.; MAYER, J. E.; ALBERT, R. & RAO, I. M. *Simulating infertile acid soils with nutrient solutions: the effects on Brachiaria species*. Soil Sci. Soc. J. , 67: 1457-1469, 2003

WISSEMEIER, A.H., DIENING, A., HERGENRÖDER, A., et al. *Callose formation as parameter for assessing genotypical plant tolerance of aluminium and manganese*. Plant and Soil, Netherlands, v.146, p.67-75, 1992.

WRIGHT, R.J. *Soil aluminum toxicity and plant growth*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.20, p.1479-1497, 1989.

YERMIYAHU, U.; BRAUER, D. K.; KINRAIDE, T. B. *Oxidative damage to membranes by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells*. Plant and Cell Physiology, Physiology Tokyo, v. 38, n. 12, p. 1333-1339, 1997.

ZHANG, G., ARCHAMBAULT, D. J.; SLASKI, J. J.; TAYLOR, G. J. *Effects of protein synthesis inhibitors on uptake of aluminum in aluminum-resistant and aluminum-sensitive cultivars of wheat*. Physiology ysiology, Journal of Plant Physiology Stuttgart, v. 147, n. 3/4, p. 457-462, 1995.