

GILBERTO COSTA JUSTINO

**EFEITO DO ALUMÍNIO SOBRE A ABSORÇÃO E A REDUÇÃO DE  
NITRATO EM DOIS CULTIVARES DE ARROZ**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das exigências  
do Programa de Pós-Graduação em  
Fisiologia Vegetal para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS-BRASIL  
2004**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

J96e Justino, Gilberto Costa, 1977-  
2004 Efeito do alumínio sobre a absorção e a redução de nitrato  
em dois cultivares de arroz/ Gilberto Costa Justino. -  
Viçosa : UFV, 2004  
34p. : il.

Orientador: José Cambraia  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Arroz- Crescimento – Efeito do alumínio. 2. Nitratos  
- Absorção e adsorção. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 20. ed. 633. 188942

**GILBERTO COSTA JUSTINO**

**EFEITO DO ALUMÍNIO SOBRE A ABSORÇÃO E A REDUÇÃO DE NITRATO  
EM DOIS CULTIVARES DE ARROZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**APROVADA: 19 de fevereiro de 2004**

---

Prof. Paulo Henrique P. Peixoto

---

Prof. Paulo Cezar Rezende Fontes

---

Prof. Marco Antônio Oliva Cano  
(Conselheiro)

---

Prof. Juraci Alves de Oliveira  
(Conselheiro)

---

Prof. José Cambraia  
(Orientador)

Aos meus pais, Sebastião e Elza

Aos meus irmãos, Marcos e Talles

Às minhas sobrinhas, Karem e Lorena

Ao meu sobrinho Tainer.

## **DEDICO E OFEREÇO**

“Não é o desenvolvimento tecnológico que corrompe o homem. Sua deterioração moral é prévia, e é ela que o inclina fatalmente a buscar nos bens materiais e no poderio econômico a única fonte de felicidade”.

**Jorge Angel Livraga**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por mais esta oportunidade.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, EMBRAPA- CNPAF, Goiânia, GO, pelo fornecimento das sementes de arroz.

Ao Professor José Cambraia com admiração, pela orientação, pelos conhecimentos transmitidos, compreensão nos momentos mais difíceis e principalmente pela confiança.

Aos Professores Marco Antônio Oliva, Juraci Alves de Oliveira, Paulo Fontes e Paulo Peixoto pelas críticas e sugestões.

Ao técnico José Antônio Bhering, pela colaboração indispensável.

A Bete pela dedicação e profissionalismo.

Ao Professor Leandro e Liliane pela amizade, apoio e convívio fraterno.

Aos amigos Adriano Simões, Aninha, Cláudio, Danilo, Dimas, Fábiana, Fábio, Júnior, Laudiene, Lílian Hasegawa, Natália, Priscila, Renata, Sidney e Uelinton pela convivência e apoio nos momentos difíceis.

A Josaphat, Eva Dantas e toda sua família, especialmente a Inêz pelo carinho e amizade.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

GILBERTO COSTA JUSTINO, filho de Sebastião Justino Barbosa e Elza Maria da Costa Justino, nasceu em Cassilândia, Estado de Mato Grosso do Sul, no dia 11 de setembro de 1977.

Em março de 1998, ingressou na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, diplomando-se Biólogo em março de 2002.

Em abril de 2002, iniciou o curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Viçosa.

## CONTEÚDO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
2.1. Obtenção do material vegetal.....	8
2.2. Avaliação do efeito do alumínio sobre o crescimento e os teores de Al, N-total, N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .....	9
2.3. Avaliação do efeito do alumínio sobre a absorção de nitrato.....	9
2.4. Avaliação do efeito do alumínio sobre a atividade da redutase do nitrato.....	10
2.4.1. Avaliação do efeito do alumínio sobre a atividade da redutase do nitrato “ <i>in vitro</i> ”.....	10
2.4.2. Avaliação do efeito do alumínio sobre a atividade da redutase do nitrato “ <i>in vivo</i> ”.....	11
2.5. Análise química.....	12
2.6. Delineamento experimental.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
3.1. Efeito do alumínio sobre o crescimento.....	13
3.2. Efeito do alumínio sobre o teor de Al, N-total, N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .....	15
3.3. Efeito do alumínio sobre a absorção de nitrato.....	18
3.4. Efeito do alumínio sobre a redução de nitrato “ <i>in vitro</i> ” e “ <i>in vivo</i> ”....	21
4. CONCLUSÕES.....	25
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
APÊNDICE.....	31

## RESUMO

JUSTINO, Gilberto Costa, M. S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2004, **Efeito do alumínio sobre a absorção e a redução de nitrato em dois cultivares de arroz**. Orientador: José Cambraia. Conselheiros: Marco Antonio Oliva Cano e Juraci Alves de Oliveira.

Estudaram-se os efeitos do alumínio (Al) sobre a absorção e a redução de nitrato, em dois cultivares de arroz com tolerância diferencial ao Al, sendo um tolerante (CNA – 1158) e outro sensível (CNA - 6843 – 1). Plântulas de arroz de 11 dias de idade foram expostas ao Al nas concentrações de 0 e 500  $\mu\text{M}$  durante 21 dias. Após esse período, foram analisadas as seguintes variáveis: crescimento, teores de Al e de nitrogênio, absorção de nitrato e as atividades “*in vitro*” e “*in vivo*” da redutase do nitrato (RN). O cultivar tolerante cresceu mais e produziu mais matéria seca na parte aérea e no sistema radicular, independente da presença de Al. O Al reduziu, significativamente, o comprimento das raízes e da parte aérea e a produção de matéria seca apenas no cultivar sensível. O teor de N-total na presença de Al aumentou significativamente apenas na parte aérea do cultivar tolerante; o teor de N- $\text{NO}_3^-$  sofreu redução apenas no sistema radicular do cultivar sensível e o de N- $\text{NH}_4^+$  não foi significativamente influenciado pela presença de Al nos dois cultivares. O Al reduziu a absorção de nitrato, nos dois cultivares, principalmente no sensível. O  $K_m$  da absorção de nitrato foi afetado nos dois cultivares; no tolerante, houve diminuição de 10,9% enquanto, no sensível, houve aumento de 3,1 vezes. As atividades da RN “*in vivo*” e “*in vitro*” foram significativamente reduzidas pelo Al, nos dois cultivares, exceto na parte aérea do cultivar tolerante. Os resultados sugerem ser a absorção de nitrato e a enzima RN importantes componentes do mecanismo de tolerância ao Al em plantas de arroz.

## ABSTRACT

JUSTINO, Gilberto Costa, M. S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2004, **Aluminum effects on the uptake and reduction of nitrate in two rice cultivars.** Adviser: José Cambraia. Committee Members: Marco Antônio Oliva Cano and Juraci Alves de Oliveira.

Aluminum effect on nitrate uptake and reduction in two rice cultivar with differential Al tolerance was studied. Eleven days-old seedlings of the Al-tolerance cultivar (Fernandes; CNA-1158) and of the Al-sensitive cultivar (Maravilha; CAN-6843-1) were exposed to 0 and 500  $\mu\text{M}$  Al. After 21 days of Al treatment plants were harvested and the following variables determined: plant growth, Al, total-N,  $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{NH}_4^+$ -N contents, nitrate uptake and “*in vivo*” and “*in vitro*” nitrate reductase (NR) activities. The Al-tolerant cultivar grew more and yielded more dry matter of the aerial parts and of the root system than the Al-sensitive cultivar, independent of the presence of Al in the nutrient solution. Aluminum reduced the growth and the dry matter yield in both plant parts but only in the Al-sensitive cultivar. The total-N content increased only in the aerial part of the Al-tolerant cultivar. The  $\text{NO}_3^-$ -N contents reduced only in the root system of the Al-sensitive cultivar, while  $\text{NH}_4^+$ -N did not change in both cultivars. Nitrate uptake was reduced by Al in both cultivars, especially in Al-sensitive one. The  $K_m$  of nitrate uptake decreased about 11 % in the Al-tolerante cultivar while it increased about 3.1 times in the Al-sensitive cultivar after Al treatment. The  $V_{\text{max}}$  did not change with Al treatment in both cultivars. Both “*in vivo*” and “*in vitro*” NR activities were significantly reduced by Al treatments in both parts of the plants of the two cultivars, except in the aerial part of the Al-tolerant cultivar. Nitrate uptake and NR activities seem to be important components of the Al tolerance in rice plants.

## 1. INTRODUÇÃO

O arroz é um dos mais importantes cereais, sendo alimento para mais de 70% da população mundial. Com o crescimento populacional e com a necessidade de intensificação da produção deste cereal, torna-se necessário a utilização de solos com características adversas, como as terras ácidas, altamente esgotadas em nutrientes minerais e, ou, com problemas de toxidez de Al. A identificação de cultivares tolerantes a essas condições, pode beneficiar a produção deste cereal em algumas regiões de vários países (JAN e PETERSON, 1995).

A toxidez do Al em plantas é considerada um dos principais fatores que limitam a produtividade das plantas em solos ácidos (GONÇALVES et al., 2000; BARCELÓ e POSCHENRIEDER, 2002), que compreendem cerca de 40% de toda área arável do mundo (KOCHIAN, 1995), incluindo os solos sob o cerrado no Brasil central. A área de cerrado ocupa quase um quarto do território nacional, concentrando-se principalmente, nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Os solos predominantes nesta região são latossolos, caracteristicamente ácidos, com baixos valores de capacidade de troca catiônica, alta saturação de Al e reduzida disponibilidade de fósforo. Uma alternativa para recuperar a fertilidade destes solos é a incorporação profunda de corretivos e fertilizante (FERREIRA, 1995). Entretanto, as técnicas atualmente disponíveis para este fim são consideradas impraticáveis por não ser conhecida uma metodologia que permita controlar adequadamente o Al permutável na parte sub-superficial dos solos ou devido aos elevados custos dos corretivos e de sua aplicação, ou ainda pela grande extensão de áreas formadas por solos apresentando elevada acidez (FERREIRA, 1995). Uma estratégia mais promissora parece ser a utilização de espécies tolerantes (DELHAIZE e RYAN, 1995), com redução ou eliminação da necessidade de correção do pH do solo.

O Al é um dos metais mais abundante na crosta terrestre, representando cerca de 7% de sua massa (DELHAIZE e RYAN, 1995) e está presente, quase sempre, na forma de complexos estáveis de gipsita e alumino-silicatos (GANESAN, 1993). Estes complexos, contudo, aos poucos, dependendo de vários fatores do meio, podem liberar o Al para a solução do solo, disponibilizando-o em concentrações elevadas para as raízes e, conseqüentemente, resultando em vários tipos de injúrias nas plantas (KOCHIAN, 1995). Muitas espécies são sensíveis a concentrações micromolares de Al (DELHAIZE e RYAN, 1995). A solubilidade do Al e, conseqüentemente, a sua toxidez são afetadas por vários fatores, incluindo o pH do solo, o tipo de argila predominante, a concentração de sais na solução do solo e o teor de matéria orgânica (FOY, 1974). Na solução do solo, o Al pode se apresentar sob diferentes formas, dependendo do pH e de outros fatores do solo. Em valores de pH abaixo de 5,0 a forma predominante e, aparentemente, mais tóxica, é a forma de íon trivalente positivo ( $Al^{3+}$ ) (MARSCHNER, 1995; DELHAIZE e RYAN, 1995). Com o aumento do pH passam a predominar formas como  $Al(OH)^{2+}$  e  $Al(OH)_2^+$  e outras.

O Al tende a se acumular preferencialmente no ápice radicular (KOCHIAN, 1995), promovendo a inibição do alongamento radicular e a divisão celular (SAMPSON et al., 1965). No caso da divisão celular, o Al, aparentemente, aumenta a estabilidade da dupla hélice, dificultando, portanto, a replicação do DNA na interfase (MORIMURA e MATSUMOTO, 1978). O acúmulo de Al no ápice radicular tem sido apontado, por alguns pesquisadores, como um indicativo de ser esta região da raiz o principal sítio da ação inibitória do Al sobre o crescimento radicular (DELHAIZE et al., 1993). Além disso, o ápice radicular parece possuir importante papel na percepção da presença do Al e no desencadeamento de mecanismos de tolerância (RENGEL, 1996). Em estudo recente, foi verificado que o Al induziu maior produção de calose no ápice radicular de cultivares de feijão (MASSOT et al., 1999), o que ocorreu na interface entre a parede celular e a membrana plasmática, principalmente ao longo dos plasmodesmas, bloqueando-os e interrompendo a comunicação intercelular. Em milho também foi observada deposição de calose após um período de 24 horas de exposição ao Al (BUDIKOVA, 1999). Esta pode ser a principal causa da redução no alongamento radicular de cultivares de trigo (SIVAGURU et al., 2000). Nestas condições, as plantas não conseguem obter adequadamente água e nutrientes do subsolo, em virtude do enraizamento superficial, tornando-se, portanto, menos

produtivas e mais susceptíveis à seca (FERREIRA, 1995). A inibição do crescimento radicular é um dos primeiros sintomas de toxidez de Al, manifestando-se após 30 minutos de exposição de cultivares de milho a este elemento (LLUGANY et al., 1995). O aumento na concentração de cálcio diminui o efeito inibitório do Al sobre o crescimento radicular em feijão e em sorgo, pois ele passa a competir com o Al pelos sítios de ligação na parede celular e membrana plasmática (CAMBRAIA et al., 1991; ZANZONOWICZ et al., 1998).

Várias espécies e cultivares respondem de maneira diferente à toxidez do Al, em função de suas diferenças genotípicas (OAKES e FOY, 1984; KOCHIAN, 1995). O mesmo tem sido sugerido existir em arroz (SIVAGURU et al., 1992). A exposição de plantas ao Al estimula a liberação de ácidos orgânicos que atuam como quelantes, imobilizando o Al em formas não-tóxicas, mecanismo este que pode ocorrer, também, internamente. Em resposta à exposição crescente ao Al, dois cultivares de trigo exibiram aumento linear na exsudação de ácido málico, sugerindo que este seria o mecanismo responsável pela tolerância apresentada (PELLET et al., 1996). Em duas variedades de feijão, o Al estimulou a secreção de ácido cítrico, o que ocorreu paralelamente ao aumento na atividade da sintase do citrato e da isocitrato desidrogenase do NADP, sugerindo que este efeito é parte do mecanismo de tolerância ao Al nessas variedades (MUGAI et al., 2000).

Para entender os mecanismos da toxidez do Al é essencial identificar os sítios primários de sua ação, anatômicos ou metabólicos, pois ela se manifesta de diferentes formas em diferentes espécies (DELHAIZE e RYAN, 1995). A toxidez do Al manifesta-se, inicialmente, no meristema e na região de alongamento celular, com reflexos imediatos na taxa de crescimento radicular (FAGERIA e ZIMMERMANN, 1979; FAGERIA, 1982; KOCHIAN, 1995) e, conseqüentemente, redução na absorção de nutrientes (CAMBRAIA e CALBO, 1980). Segundo alguns autores, é nesta região que diferentes genes envolvidos na tolerância ao Al são expressos (DELHAIZE et al, 1993). Após exposições mais prolongadas do sistema radicular de plantas de arroz ao Al, a toxidez se manifesta por meio de um conjunto de sintomas, que expressam o efeito contínuo deste íon sobre o crescimento do sistema radicular e da parte aérea e na absorção e utilização de nutrientes (FAGERIA et al., 1989). Tais sintomas incluem reduções no peso de matéria seca, no número e no comprimento das raízes, freqüentemente associados ao aumento no raio médio e no volume radicular (SIVAGURU e PALIWAL, 1993). Além de afetar o alongamento e a divisão

celular no meristema apical das raízes, o Al, também, reduz a absorção de água e de nutrientes minerais (CAMBRAIA e CALBO, 1980; MARSCHNER, 1995, GRAHAM et al., 2001). Além disso, o Al afeta o teor de clorofila, por estimular a atividade de clorofilases (NEOGY et al., 2001), carotenóides (MILIVOJEVIC et al., 2000), fotossíntese (OHKI, 1986) e a respiração celular causando também efeitos inibitórios sobre a absorção de íons (FAGERIA et al., 1982). O Al ocasionou o acúmulo de fósforo e ferro no sistema radicular de uma variedade de trigo, provavelmente por interferir no seu transporte para a parte aérea, mas diminuiu a concentração de manganês na parte aérea (FOY E FLEMING, 1982; FAGERIA e CARVALHO, 1982). A absorção de cálcio também foi afetada pela presença de Al em um cultivar sensível de arroz, embora o cultivar tolerante não tenha sido significativamente afetado. A absorção de magnésio foi drasticamente afetada em dois cultivares de arroz (JAN e PETERSON, 1993; MENDONÇA et al., 2003), provavelmente pela inativação de transportadores ou pela competição por sítios de absorção (RENGEL E ROBINSON, 1989).

Evidências bioquímicas indicam que o Al liga-se ao fósforo, por reação de adsorção-precipitação, na parede das células epidérmicas e corticais, e aos grupos carboxílicos livres dos ácidos poligalacturônicos da lamela média, sendo estes, provavelmente, os principais sítios de adsorção (MATSUMOTO et al., 1976). Interações do Al com a parede celular e a membrana plasmática são, segundo estes autores, extremamente prejudiciais à estrutura e à função destes componentes celulares, interferindo na absorção de nutrientes essenciais. No citoplasma, o Al liga-se à enzimas, à calmodulina, à tubulina e ao ATP, GTP e DNA, alterando o metabolismo celular (DELHAIZE e RYAN, 1995).

No caso de arroz, outra alteração fisiológica que comumente está associada com a exposição das plantas a níveis tóxicos de Al é a destruição da membrana plasmática de tecidos jovens (WAGATSUMA et al., 1995). Como o arroz é uma espécie considerada relativamente tolerante ao Al, a influência deste elemento se restringe às porções mais externas da raiz e ao ápice radicular. Acredita-se que nessa e em outras espécies tolerantes ao Al, a integridade da membrana plasmática das células do ápice radicular, possa ser preservada por apresentarem menor capacidade de ligar Al (WAGATSUMA et al., 1995). Esses autores acreditam que o Al, ao se ligar à membrana plasmática, promove sua desintegração, resultando no vazamento de K e no desenvolvimento de anormalidades

morfológicas no ápice radicular. Em milho, a presença de Al ocasionou mudanças qualitativas na composição polipeptídica das proteínas periféricas de membranas de raízes, ocorrendo o aumento de 14 polipeptídios com massa molecular entre 10 e 135 kDa. Porém, nenhuma mudança foi encontrada na composição de proteínas integrais de membranas do sistema radicular e na composição polipeptídica de proteínas integrais e periféricas de membranas isoladas de coleótilos (MISTRİK et al., 2000). Em cevada houve mudança no perfil protéico da primeira folha apenas no cultivar sensível, enquanto, no cultivar tolerante nenhuma alteração foi detectada (TAMAS e MISTRİK, 1999).

Algumas evidências sugerem que o metabolismo de N também está, de algum modo, envolvido no mecanismo de tolerância das plantas ao Al (FOY e FLEMING, 1982; KELTJENS E ULDEN, 1987; CAMBRAIA et al., 1989). Aparentemente, a tolerância ao Al em algumas espécies de plantas parece estar associada à capacidade delas utilizarem nitrato na presença de amônio e aumentarem o pH do meio de crescimento. Em sorgo, porém, isto parece não ser verdade, pois, as plantas, na presença de Al, diminuem o pH do meio, sendo o efeito mais intenso à medida que à relação nitrato/amônia decresce (CAMBRAIA et al., 1987; KELTJENS E ULDEN, 1987).

O Al tem efeito variado sobre a absorção de nitrato, não existindo uma explicação fisiológica para diversos resultados conflitantes. O Al reduziu a absorção do nitrato em dois cultivares de sorgo, principalmente no cultivar sensível (CAMBRAIA et al., 1989), em milho (DURIEUX et al., 1993) e em soja (RUFTY Jr et al., 1995). Em cevada, ao contrário, Al aumentou a absorção de nitrato (NICHOL et al., 1993). Aparentemente, os efeitos do Al sobre a absorção de nitrato dependem da espécie estudada, da concentração do Al no meio de absorção, da duração do tratamento aplicado e, provavelmente, da sua interferência posterior no processo de redução do nitrato e, ou, assimilação do nitrogênio em compostos orgânicos.

Existe, também, bastante divergência quanto aos efeitos do Al sobre a redução e, ou, assimilação do nitrogênio. Em soja, o Al parece não ter qualquer efeito sobre a redução do nitrato (RUFTY Jr et al., 1995). Vários estudos, contudo, indicam que o Al além de interferir na absorção de nitrato, reduz a atividade da redutase do nitrato (CAMBRAIA et al., 1989; CUMMING, 1990), embora em algumas espécies tenham sido detectados pequenos estímulos na atividade desta enzima (KELTJENS e ULDEN, 1987; KLOTZ e

HORST, 1988). Em arroz, GANESAN et al. (1993) sugerem que o Al interfere na síntese da redutase do nitrato ou afeta diretamente a atividade da enzima, visto que esta foi diminuída no cultivar sensível, enquanto no cultivar tolerante, isto não aconteceu. Esses autores admitem que o metabolismo de nitrogênio tem papel crucial no processo de tolerância ao Al em arroz. Novamente, estes resultados divergentes parecem ser decorrentes da utilização de diferentes espécies e da aplicação do Al em diferentes concentrações no meio de absorção, além das diversas condições experimentais aplicadas.

A redutase do nitrato é a primeira enzima participante do processo de assimilação do nitrato e, provavelmente, representa um passo limitante para o processo. O Al, na maioria dos trabalhos publicados, parece ter efeito negativo sobre a atividade “*in vivo*” e “*in vitro*” da redutase do nitrato (KELTJENS e ULDEN, 1987; CAMBRAIA et al., 1989). Em alguns casos, a atividade enzimática foi tão fortemente inibida pelo Al, que os autores sugerem ser a redutase do nitrato uma enzima-chave associada ao mecanismo de tolerância ao Al em sorgo (CAMBRAIA et al., 1989). SANTORO et al. (1984) estudando os efeitos do Al em milho (*Zea mays* L.), observaram efeitos depressivos deste íon sobre a atividade da redutase do nitrato em folhas de milho tendo, a atividade enzimática caído para 50% após 5 dias de exposição e para 20% após 9 dias de exposição. Estas reduções foram acompanhadas por decréscimos nos teores de nitrato nas folhas, sugerindo que o Al estaria afetando, também, a absorção radicular de nitrato. Em arroz, GANESAN et al. (1993) estudaram os efeitos do Al sobre a absorção de nitrato, sobre a atividade da redutase do nitrato e sobre a capacidade das plantas elevarem o pH da solução externa. Baseados em seus resultados eles sugerem que a tolerância do cultivar utilizado (Co 37) foi resultante da maior capacidade deste cultivar manter a absorção de nitrato e a atividade da redutase do nitrato em relação ao cultivar considerado (ADT 36).

Existe grande interesse em se conhecer o(s) possível(s) mecanismo(s) bioquímico(s) e, ou, fisiológico(s) de tolerância das plantas ao alumínio. Este conhecimento possibilitará não apenas a obtenção de variedades ou cultivares que sejam ao mesmo tempo mais tolerantes e mais produtivos, mas, possibilitará, também, o estabelecimento de condições ótimas de produção da planta, mesmo na presença de níveis elevados deste metal (MENDONÇA, 2001). Parece provável haver uma relação entre o metabolismo de nitrogênio e a tolerância diferencial ao Al. Contudo, esta inter-relação não está ainda

perfeitamente esclarecida. Estudar o efeito deste elemento sobre a absorção e redução de nitrato constitui passo bastante importante para o entendimento dos mecanismos que conferem resistência aos cultivares tolerantes.

Este trabalho teve como objetivo, portanto, determinar os efeitos do Al sobre o crescimento das plantas, a absorção e a redução de nitrato em dois cultivares de arroz com tolerância diferencial ao Al.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção do material vegetal

Nos experimentos foram utilizados dois cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) com tolerância diferencial ao Al: um tolerante (Fernandes: CNA-1158) e outro sensível ao Al (Maravilha: CNA-6843-1), fornecidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão de Goiânia, GO.

As sementes, selecionadas quanto ao tamanho e forma, foram tratadas com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 50% (v/v) por 15 min, lavadas em água de torneira e esterilizadas superficialmente com hipoclorito de sódio 2% (v/v) por 15 minutos, sendo lavadas, novamente, em água corrente e em água desmineralizada. Elas foram, então, colocadas para germinar em cartuchos de papel “germtest”, em vasos de 1,6 L contendo solução nutritiva de Clark (CLARK, 1975), pH 4,0, com um terço da força iônica original, sob aeração contínua e cobertos com sacos de plástico para criar uma câmara úmida. Após três dias, os sacos plásticos foram retirados permanecendo as plântulas por mais oito dias, recebendo um fluxo de radiação fotossinteticamente ativa de 230  $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas, sob arejamento contínuo.

Todos os experimentos foram realizados em sala de crescimento com temperatura controlada ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ), sob fluxo de radiação fotossinteticamente ativa de 230  $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e sob arejamento contínuo.

## **2.2. Avaliação dos efeitos do alumínio sobre o crescimento e teores de Al, N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**

Plantas dos dois cultivares de arroz, obtidas conforme descrito no item 2.1, após uma seleção, procurando manter a uniformidade de tamanho e forma, foram transplantadas em número de 4 para vasos de polietileno contendo 1,6 L de solução nutritiva de Clark, pH 4,0 (CLARK, 1975). Os tratamentos consistiram na aplicação de Al nas concentrações de 0 e 500 µM, na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. O pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente para 4,0 utilizando-se NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N. A solução nutritiva foi renovada a cada 7 dias, sendo o experimento encerrado após 21 dias de cultivo. As plantas foram, então, colhidas, lavadas em água corrente e depois enxaguadas em água desmineralizada. No caso das raízes, elas foram lavadas em água corrente e, em seguida em HCl 0,1 N por 15 minutos para eliminar o Al da parte externa das raízes, sendo lavadas novamente em água corrente e, finalmente, enxaguadas em água desmineralizada. Determinou-se o comprimento da maior raiz e da parte aérea, além do peso da matéria seca das duas partes das plantas, após secagem em estufa a 70°C, até atingirem peso constante. Amostras de matéria seca foram, então, pulverizadas em almofariz elétrico e mineralizadas para a determinação dos teores de Al, N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

## **2.3. Avaliação do efeito do Al sobre a absorção de nitrato**

Plantas de dois cultivares de arroz, obtidas conforme descrito no item 2.1, após uma seleção, procurando manter a uniformidade de tamanho e forma, foram transplantadas em número de 12, para vasos de polietileno contendo 1,6 L de solução nutritiva de Clark, pH 4,0 (CLARK, 1975). Os tratamentos consistiram na aplicação de Al nas concentrações de 0 e 500 µM na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. O pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente para 4,0 utilizando-se NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N. A solução nutritiva foi renovada a cada 5 dias. Após 21 dias as plantas foram transferidas para vasos contendo 500 mL de solução nutritiva,

fornecendo  $\text{N-NO}_3^-$  0,1 mM como fonte única de nitrogênio e  $\text{CaCl}_2$  1 mM. As plantas permaneceram neste tratamento por 24 horas, sendo as soluções nutritivas renovadas a cada 4 horas. Decorrido este tempo, necessário para a obtenção do equilíbrio estacionário, e após a lavagem do sistema radicular com água desmineralizada, as plantas foram transferidas para novos vasos contendo 500 mL da mesma solução nutritiva anterior, com seus respectivos tratamentos. Então, alíquotas de 1 mL do meio de cultivo passaram a ser periodicamente coletadas. No início, em intervalos de 15 minutos, até se completarem 2 horas e, então, em intervalos de 1 hora, até o final do experimento, quando ocorreu o esgotamento do nitrato na solução nutritiva. A redução do volume pela retirada das alíquotas foi compensada pela adição de igual volume de água desmineralizada (CAMBRAIA et al., 1989). No final do experimento, os sistemas radiculares foram destacados, lavados e colocados para secar até obtenção de peso constante. A concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  nas alíquotas coletadas foi determinada espectrofotometricamente a 210 nm (CAWSE, 1967).

As constantes cinéticas de absorção  $V_{\text{max}}$  e  $K_m$  para  $\text{N-NO}_3^-$ , foram avaliadas segundo metodologia proposta por CLAASEN e BARBER (1974), e estimadas por uma aproximação gráfico-matemática desenvolvida por RUIZ (1985).

## **2.4. Avaliação do efeito do Al sobre a atividade da redutase do nitrato**

### **2.4.1. Avaliação do efeito do Al sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vitro*”.**

Plantas de dois cultivares de arroz, obtidas conforme descrito no item 2.1, após uma seleção, procurando manter a uniformidade de tamanho e forma, foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 1,6 L de solução nutritiva de Clark, pH 4,0 (CLARK, 1975). Os tratamentos consistiram na aplicação de Al nas concentrações de 0 e 500  $\mu\text{M}$  na forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . O pH da solução nutritiva foi ajustado para 4,0 utilizando-se  $\text{NaOH}$  0,1 N ou  $\text{HCl}$  0,1 N. A solução nutritiva foi renovada a cada 7 dias e, no vigésimo primeiro dia, ela foi novamente renovada e modificada para conter todo o N na forma nítrica. A partir deste momento, as plantas foram expostas à luz contínua por um período de 24 h, após o que o experimento foi encerrado e a atividade da redutase do nitrato determinada nas duas partes da planta.

Amostras de folhas e raízes foram trituradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em um meio constituído de tampão tris-HCl 0,1M, pH 8,1, NiSO<sub>4</sub> 4 mM e glutathiona reduzida 20 mM (CAMBRAIA et al., 1989). Os extratos brutos foram filtrados através de quatro camadas de gaze e centrifugados a 15.000 *xg* durante 15 minutos, usando-se o sobrenadante para a determinação da atividade enzimática. Alíquotas de 0,2 mL do extrato enzimático foram adicionadas a 1,8 mL de um meio de reação constituído de 200  $\mu$ moles de tampão tris-HCl, pH 7,5, 20  $\mu$ moles de KNO<sub>3</sub>, 0,1  $\mu$ mol de NADH e 0,1 mL de triton X-100 1% (p/v), sendo a mistura incubada à temperatura de 30° C durante 10 minutos. Após este tempo, a reação foi interrompida pela adição de 2 mL de sulfanilamida 1% (v/v) em mistura com N-naftil etilenodiamino 0,01% (v/v) em HCl 1,0 M. O nitrito produzido foi determinado por espectrofotometria do visível a 540 nm (CAMBRAIA et al., 1989). A atividade enzimática foi expressa em  $\mu$ moles de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> de matéria fresca (MF).

A temperatura de todos os equipamentos e das soluções, usados durante as operações de extração enzimática foi mantida entre 0 e 4° C.

#### **2.4.2. Avaliação do efeito do Al sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vivo*”.**

Plantas de dois cultivares de arroz, obtidas conforme descrito no item 2.1, após uma seleção, procurando manter a uniformidade de tamanho e forma, foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 1,6 L de solução nutritiva de Clark, pH 4,0 (CLARK, 1975). Os tratamentos consistiram na aplicação de Al nas concentrações de 0 e 500  $\mu$ M na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. O pH da solução nutritiva foi ajustado para 4,0 utilizando-se NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N. A solução nutritiva foi renovada a cada 7 dias e, no vigésimo primeiro dia, ela foi novamente renovada e modificada para conter todo o N na forma nítrica. A partir deste momento, as plantas foram expostas à luz contínua por um período de 24 h, após o que o experimento foi encerrado e a atividade da redutase do nitrato determinada nas duas partes da planta.

Amostras de cerca de 200 mg de tecido vegetal (discos foliares ou fragmentos de aproximadamente 1 cm de raiz) foram introduzidas em 5,0 mL de um meio de reação constituído de tampão fosfato 100 mM, pH 7,5, KNO<sub>3</sub> 30 mM, propanol 5% (v/v) e duas

gotas de cloranfenicol ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ), sendo incubadas no escuro a  $25^\circ \text{ C}$ , durante 1 hora. Alíquotas de 0,4 mL do meio foram, então, retiradas e a elas adicionadas 0,3 mL de sulfanilamida 1% (p/v) em HCl 3M, 0,3 mL de hidrocloreto de N-1-naftil-etilenodiamina 0,02% (p/v) e 2 mL de água desmineralizada. Após 15 minutos, determinou-se a absorvância a 540 nm (JAWORSKI, 1971). A atividade enzimática foi expressa em  $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de matéria seca (MS).

## **2.5. Análises químicas**

O teor de N-total foi determinado segundo técnica recomendada por CATALDO et al. (1974) a partir de amostras pulverizadas e mineralizadas utilizando-se uma mistura sulfosalicídica. Para a determinação do Al, as amostras foram mineralizadas em uma mistura nítrico-perclórica (2:1; v/v), sendo o seu teor determinado pelo método da aluminona (WANG e WOOD, 1973). Os íons  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NH}_4^+$  foram extraídos por incubação de 100 mg das amostras em 10 mL de água desmineralizada durante 1 hora, à  $45^\circ \text{ C}$ . A suspensão foi centrifugada a  $5.000 \times g$  durante 15 minutos. Os teores de  $\text{N-NO}_3^-$  e de  $\text{N-NH}_4^+$  foram determinados nos sobrenadantes pelo método da nitração com ácido salicílico (CATALDO et al., 1975) e pelo método de Nessler (HAWK et al, 1954), respectivamente.

## **2.6. Delineamento experimental**

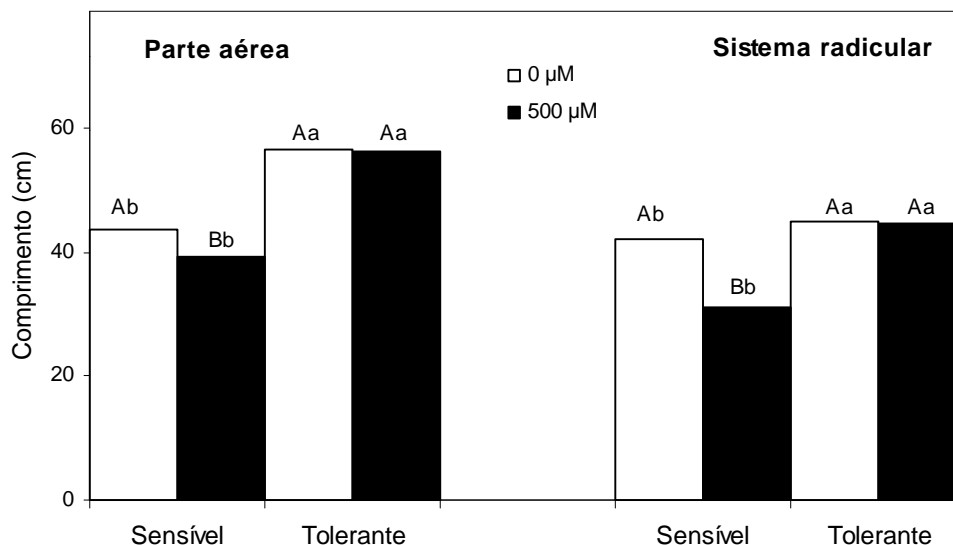
Todos os experimentos foram dispostos em esquema fatorial, no delineamento de blocos casualizados. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Efeito do Al sobre o crescimento**

Os comprimentos da parte aérea e da raiz seminal sofreram redução na presença de Al apenas no cultivar sensível (Figura 1). Na presença de Al, o comprimento da parte aérea do cultivar sensível diminuiu 10,1% e o do sistema radicular 26,2%, enquanto no cultivar tolerante não foram observados efeitos significativos nas duas partes da planta. GANESAN et al. (1993), trabalhando com outros cultivares de arroz, observaram redução de 22% no comprimento do sistema radicular no cultivar sensível e de 8% no tolerante. SIVAGURU e PALIWAL (1993), trabalhando com plântulas de 22 cultivares de arroz, observaram desde aumentos até reduções severas no comprimento das raízes e da parte aérea de plantas tratadas com Al na concentração de 222  $\mu\text{M}$ .

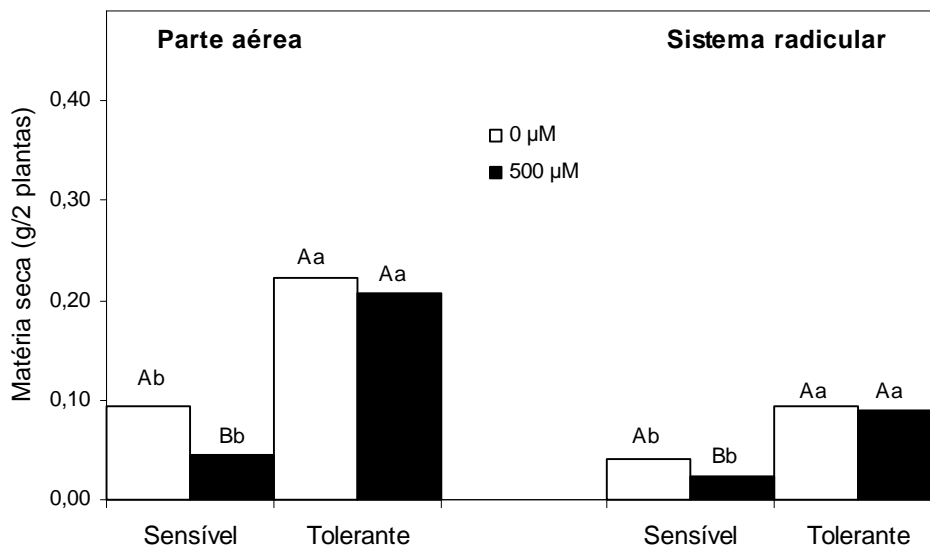
O comprimento, tanto da parte aérea quanto do sistema radicular, independente da presença de Al, foi maior no cultivar tolerante (Figura 1). Na presença de Al, entretanto, como o cultivar sensível teve seu crescimento reduzido pelo Al e o tolerante não, a diferença entre eles tornou-se ainda maior; na presença de Al, o comprimento tanto da parte aérea quanto do sistema radicular do cultivar tolerante foi, em média, 30% maior do que no sensível.



**Figura 1:** Efeito do alumínio sobre o comprimento da parte aérea e do sistema radicular de dois cultivares de arroz, em solução nutritiva. As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A produção de matéria seca, tanto pelo sistema radicular quanto pela parte aérea, sofreu redução significativa na presença de níveis tóxicos de Al apenas no cultivar sensível (Figura 2). Na presença de Al, a produção de matéria seca neste cultivar sofreu redução de 52,7% e de 41,5% na parte aérea e no sistema radicular, respectivamente. Esses resultados confirmam os dados obtidos por MENDONÇA et al (2003), utilizando os mesmos cultivares de arroz, embora as concentrações de Al testadas por eles tenham sido 0,75 e 1,5 mM.

O cultivar tolerante produziu uma quantidade de matéria seca significativamente maior do que o sensível, tanto da parte aérea quanto do sistema radicular. Na parte aérea e no sistema radicular a produção de matéria seca foi respectivamente 78,6 e 73,0% maior no cultivar tolerante do que no sensível, na presença de Al 500 μM. Outros cultivares de arroz apresentaram, na presença de Al na concentração de 222 μM, reduções no peso da matéria seca do sistema radicular de 13 e 34% nos cultivares tolerante e sensível, respectivamente (GANESAN et al., 1993).



**Figura 2:** Efeito do alumínio sobre a produção de matéria seca de dois cultivares de arroz, em solução nutritiva. As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre os níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A capacidade de produzir maior sistema radicular e, conseqüentemente, favorecer maior absorção de água e de elementos minerais e a capacidade de produzir maior parte aérea e, conseqüentemente, maior fotossíntese e produção de matéria seca que o cultivar sensível, principalmente na presença de Al, expressa a maior tolerância ao Al do cultivar tolerante.

Estudo realizado por FAGERIA et al. (1998), utilizando seis cultivares de arroz, inclusive o cultivar Fernandes, ao variar as concentrações de Al de 0 a 2.226 μM, observaram reduções na produção de matéria seca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular. No caso do cultivar Fernandes não foi observada redução significativa de matéria seca até a concentração de 742 μM de Al (FAGERIA et al., 1998), conforme no presente estudo se constatou também.

### 3.2. Efeito do alumínio sobre os teores de Al, N total, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

O teor de Al aumentou significativamente com o tratamento das plantas com este elemento, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular (Quadro 1). No sistema radicular

**Quadro 1:** Teores de alumínio na parte aérea e no sistema radicular de dois cultivares de arroz, em solução nutritiva.

Cultivar	Al	Teor de Al	
		Parte aérea	Sistema radicular
	$\mu M$		$mg\ g^{-1}MS$
<i>Tolerante</i>	0	0,23Ba <sup>1</sup>	0,50Ba
	500	0,32Aa	2,52Aa
<i>Sensível</i>	0	0,08Bb	0,50Ba
	500	0,29Aa	2,67Aa

<sup>1</sup> As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre os níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

o teor de Al aumentou cerca de 5 vezes com o tratamento com Al nos dois cultivares. Os cultivares diferiram entre si quanto ao teor de Al apenas na parte aérea dos controles. O cultivar tolerante apresentou teor mais elevado de Al nesta parte da planta que o cultivar sensível. O teor de Al na parte aérea das plantas controle do cultivar tolerante, comparativamente aos encontrados por MENDONÇA et al. (2003) trabalhando com o mesmo cultivar de arroz utilizado neste experimento, sugere a possibilidade de ter ocorrido algum tipo de contaminação desta parte da planta durante a realização das análises químicas. Contudo, outras análises realizadas posteriormente com o mesmo material confirmaram os resultados.

Os teores de Al nas duas partes da planta, portanto, não foram indicativos de qualquer diferença de tolerância entre os cultivares utilizados. A análise das formas e da localização do Al nas células e tecidos, talvez, possa indicar com mais clareza diferenças entre os cultivares quanto à tolerância ao Al.

A presença de Al não teve efeito sobre os teores de N-total nas duas partes das plantas dos dois cultivares, exceto na parte aérea do cultivar tolerante em que se observou um aumento de 18,4% (Quadro 2). O teor de N-total na parte aérea do cultivar tolerante foi

**Quadro 2.** Efeito do alumínio sobre o teor de N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> na matéria seca da parte aérea e de raízes de dois cultivares de arroz em solução nutritiva.

Cultivar	Al	N-total		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	
		Parte Aérea	Sistema Radicular	Parte Aérea	Sistema Radicular	Parte Aérea	Sistema Radicular
	$\mu M$	<i>mmoles g<sup>-1</sup>MS</i>					
<b>Tolerante</b>	0	4,29Ba <sup>1</sup>	3,07Ab	0,33Aa	0,64Aa	0,12Aa	0,13Aa
	500	5,08Aa	2,66Ab	0,31Aa	0,74Aa	0,14Aa	0,15Aa
<b>Sensível</b>	0	3,62Ab	3,22Aa	0,37Aa	0,60Aa	0,07Aa	0,07Aa
	500	3,49Ab	3,35Aa	0,34Aa	0,41Bb	0,09Aa	0,06Aa

<sup>1</sup> As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre os níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta e para cada variável avaliada não diferem, estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

sempre maior do que no sensível, independente da presença de Al. Na presença de Al, o teor de N-total no cultivar tolerante aumentou na parte aérea, enquanto no sensível não foi significativamente influenciado, tornando-se, 45,6% maior do que no cultivar sensível. Neste cultivar o teor de N-total não sofreu modificação em nenhuma das duas partes da planta em resposta ao tratamento com Al.

HAI et al (1984), utilizando um cultivar de arroz originário do Vietnam, não encontraram nenhum efeito significativo até concentrações de Al de 1.111  $\mu M$ , sobre a concentração de N-total nas duas partes da planta.

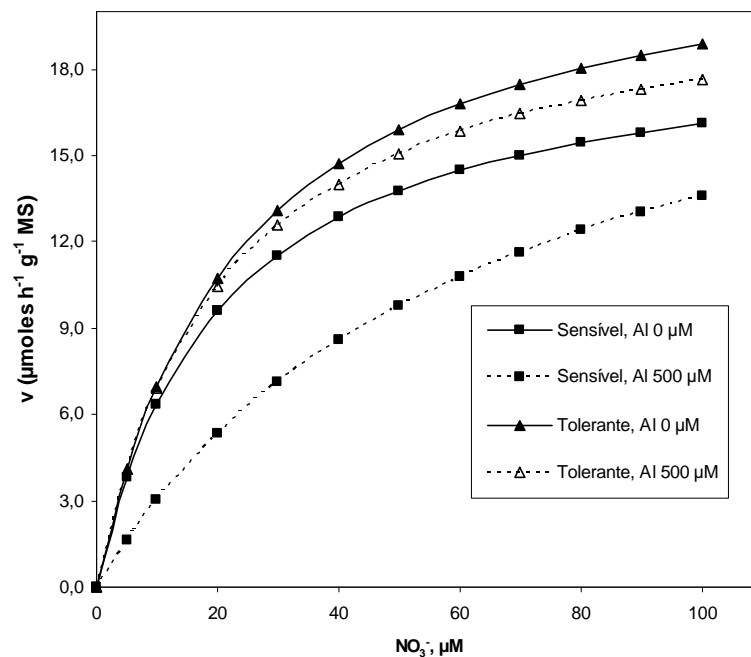
Os teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> não foram afetados pela presença de Al, exceto no sistema radicular do cultivar sensível, em que se observou decréscimo significativo de 31,7% (Quadro 2). Nos outros casos, não foram observadas diferenças significativas entre os cultivares. O cultivar tolerante, na presença de Al, apresentou 80,5% mais N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no sistema radicular que o cultivar sensível.

Em dois outros cultivares de arroz, um tolerante e outro sensível, tratados com Al, diferentemente dos resultados obtidos neste experimento, foram observadas reduções nos teores de  $\text{N-NO}_3^-$  na parte aérea (GANESAN et al., 1993).

O Al não afetou significativamente os teores de  $\text{N-NH}_4^+$  nem na parte aérea e nem no sistema radicular dos dois cultivares de arroz e nenhuma diferença entre os cultivares foi observada (Quadro 2). O íon  $\text{NH}_4^+$  é importante desacoplador de fosforilações e sua concentração é, usualmente, mantida baixa no citoplasma, principalmente pela sua assimilação à forma de glutamina (MARSCHNER, 1995). Os processos de extração e de determinação de  $\text{N-NH}_4^+$  se mostraram muito variáveis (Coeficiente de variação igual a 16,1%), provavelmente, encobrindo possíveis diferenças entre os cultivares.

### **3.3. Efeito do alumínio Al sobre a absorção de nitrato**

Mesmo na ausência de Al na solução nutritiva, o cultivar tolerante já apresentava maior absorção de nitrato do que o sensível (Figura 3). Na presença de Al, a absorção de nitrato decresceu nos dois cultivares, mas principalmente no sensível, aumentando ainda mais as diferenças entre os dois cultivares. Das constantes cinéticas de absorção de nitrato avaliadas, apenas o  $K_m$  foi modificado nos dois cultivares na presença de Al (Quadro 3). A velocidade máxima de absorção ( $V_{\text{max}}$ ) não foi influenciada significativamente pela presença de Al na solução nutritiva nos dois cultivares que, também, não diferiram entre si, independente do tratamento com Al. Os dois cultivares de arroz, entretanto, apresentaram diferenças significativas com relação ao  $K_m$  tanto na presença quanto na ausência de Al (Quadro 3). Na ausência de Al, o cultivar tolerante apresentava  $K_m$  14,7% maior que o sensível. Na presença de Al, o  $K_m$  da absorção de  $\text{NO}_3^-$  no cultivar tolerante reduziu 10,9%, enquanto no sensível observou-se aumento de 3,1 vezes. Nesta condição, o cultivar sensível passou a ter um  $K_m$  cerca de 3 vezes maior que o tolerante. Isto quer dizer que o cultivar sensível embora tivesse apresentado, aparentemente, maior afinidade por nitrato que o tolerante na ausência de Al, na presença deste íon passou a ter afinidade muito menor que o cultivar tolerante, perdendo capacidade de absorver esse ânion em soluções mais diluídas.



**Figura 3:** Efeito do alumínio sobre a velocidade de absorção de nitrato por dois cultivares de arroz, em solução nutritiva.

**Quadro 3.** Efeito do Al sobre as constantes cinéticas de absorção de nitrato em dois cultivares de arroz em solução nutritiva.

Cultivar	Al	Constantes cinéticas	
		$V_{max}$	$K_m$
	$\mu M$	$\mu mol\ g^{-1} h^{-1} MS$	$\mu M$
<i>Tolerante</i>	0	23,34Aa <sup>1</sup>	23,50Aa
	500	21,35Aa	20,93Bb
<i>Sensível</i>	0	19,41Aa	20,49Bb
	500	22,13Aa	62,89Aa

<sup>1</sup>As médias, nas colunas, seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre os níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Em dois híbridos de milho (*Zea mays* L.), a exposição ao Al, durante 30 minutos, resultou em 25 e 30% de inibição na absorção de  $\text{NO}_3^-$  (DURIEUX et al., 1993). Em cevada (*Hordeum vulgare*), por outro lado, a exposição ao Al por 5 minutos, resultou em aumento de 44% na absorção de nitrato, em inibição na absorção de cátions divalentes e monovalentes e em estímulo na absorção de ânions, provavelmente devido a mudanças causadas nas cargas negativas dos fosfolipídios e, ou nos resíduos de aminoácidos das proteínas da membrana plasmática (NICHOL et al., 1993). Os resultados destes e de outros experimentos (CAMBRAIA, 1989), sugerem que o principal efeito do Al sobre a absorção de nitrato se dá na configuração da proteína transportadora, modificando a afinidade do sítio de ligação do nitrato, isto é, o seu  $K_m$ . Além disso, o Al diminuiu o  $V_{\max}$  em 98 e 42% e aumentou o  $K_m$  em 267 e 42% em dois cultivares de sorgo, sensível e tolerante, respectivamente (CAMBRAIA, 1989). A diminuição na absorção de nitrato pelo Al tem sido sugerida ser resultante de uma restrição na indução da síntese dos transportadores de nitrato e, ou de um efeito direto na atividade dos transportadores existentes (DURIEUX et al., 1993). A transferência da planta tratada com Al para uma solução nutritiva isenta deste íon, possibilita o retorno da biossíntese e a restauração da atividade dos transportadores, sugerindo que a ação do Al se dá diretamente sobre o transportador, ligando-se aos sítios de absorção de nitrato (DURIEUX et al., 1993).

Em dois cultivares de sorgo, CAMBRAIA et al.(1989) observaram que o cultivar sensível foi mais influenciado que o tolerante, tendo seu  $V_{\max}$  diminuído cerca de 267%, enquanto o cultivar tolerante sofreu redução de apenas 93%. Neste trabalho, os autores ainda constataram que o  $K_m$  aumentou cerca 42,1% no cultivar tolerante e cerca de 3,7 vezes no cultivar sensível, indicando, principalmente no último caso, forte redução na afinidade do carregador para com o ânion  $\text{NO}_3^-$ . No presente estudo, embora o  $V_{\max}$  de absorção de nitrato pelo cultivar tolerante não tenha sido afetado significativamente na presença do Al, o  $K_m$  sofreu uma redução de cerca de 11%, indicando ter havido aumento na afinidade do transportador de nitrato neste cultivar com o tratamento com Al. CALBA e JAILLARD (1997), verificando o efeito do Al sobre a absorção de íons em milho, observaram que a absorção de ânions, especialmente  $\text{NO}_3^-$ , foi bastante reduzida, mas a absorção de  $\text{K}^+$  e de  $\text{NH}_4^+$  permaneceram inalteradas após 5 dias de exposição ao Al.

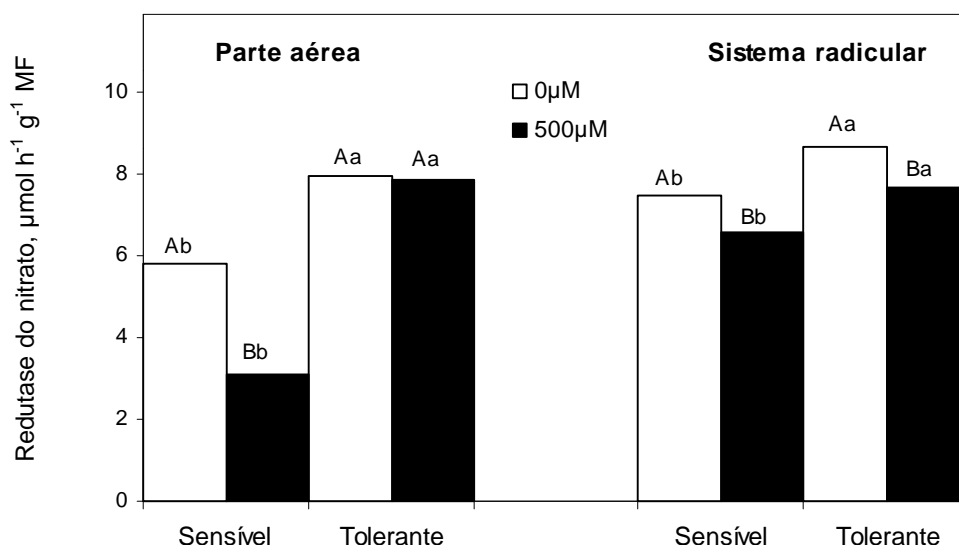
Em plantas de chá, a absorção de nitrato diminuiu 5, 38 e 55% na presença de Al nas concentrações de 1, 2 e 10 mmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. A absorção de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, porém, decresceu apenas 21% na maior concentração de Al. O teor de N-total e de aminoácidos diminuiu, bem como a atividade da NR, principalmente no sistema radicular (WU et al., 1995).

### 3.4. Efeito do alumínio sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vitro*” e “*in vivo*”

A atividade “*in vitro*” da redutase do nitrato (RN) no cultivar sensível sofreu, na presença de Al, redução de 46,4 e 12,4% na parte aérea e no sistema radicular, respectivamente, enquanto no tolerante observou-se redução de 14,0% na atividade desta enzima somente no sistema radicular (Figura 4). A atividade da RN, tanto na ausência quanto na presença de Al, foi maior no cultivar tolerante nas duas partes da planta dos dois cultivares. Na parte aérea, na presença de Al, o cultivar tolerante chegou a ter uma atividade de RN 60,6% maior do que o cultivar sensível.

Em sorgo, a atividade “*in vitro*” da RN na presença de Al, na concentração de apenas 185 µM diminuiu 72,6 e 63,3% e 21,6 e 31,3% no sistema radicular e na parte aérea dos cultivares sensível e tolerante, respectivamente, sugerindo uma participação dessa enzima nos mecanismos de tolerância ao Al em sorgo. A atividade da redutase do nitrato em sorgo foi maior nas folhas do que no sistema radicular, indicando que nesta espécie a redução do nitrato ocorre predominantemente na parte aérea (CAMBRAIA et al., 1989), enquanto em arroz, a maior atividade da RN foi encontradas no sistema radicular. Comparativamente, os cultivares de arroz se mostraram muito mais tolerantes quanto à manutenção da atividade da RN na presença de Al do que os cultivares de sorgo estudados por CAMBRAIA et al (1989). No último caso, além das reduções terem sido maiores, o foram em concentração de Al muito mais baixa (185 µM de Al) do que a utilizada neste experimento.

No cultivar sensível, a atividade “*in vivo*” da RN na presença de Al sofreu redução de 37,5 e 45,6% na parte aérea e no sistema radicular, respectivamente, enquanto no cultivar tolerante não foi observada redução significativa na parte aérea. No sistema radicular a redução foi de apenas 15,2%. Em trigo a atividade da RN decresceu severamente na parte

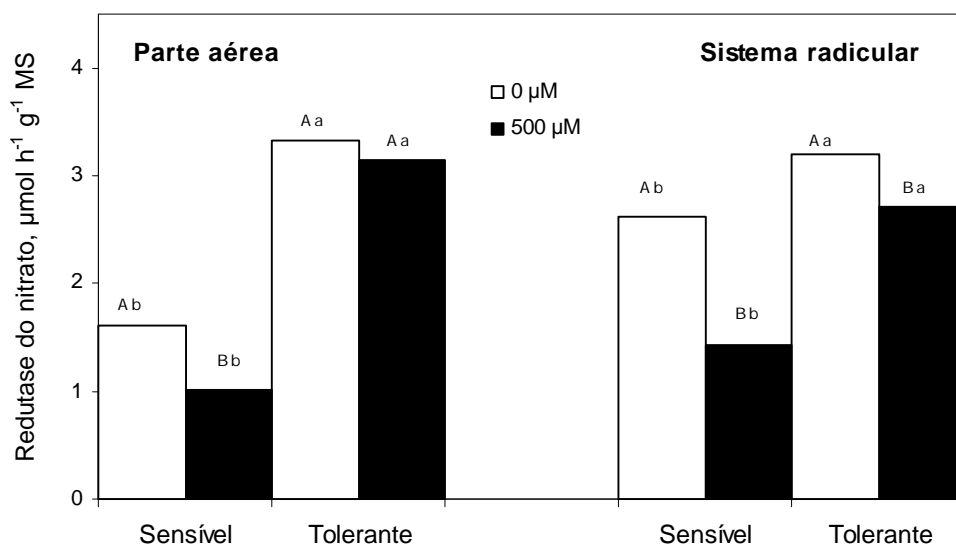


**Figura 4:** Efeito do alumínio sobre a atividade “*in vitro*” da redutase do nitrato em dois cultivares de arroz, em solução nutritiva. As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

aérea na presença de 0,5 mM de Al, após 19 dias de exposição ao Al, porém, no sistema radicular a atividade não foi afetada. Os autores concluem que este efeito foi, provavelmente, causado pelo acúmulo de aminoácidos e não por um efeito direto do Al (SHEN et al., 1994).

MISTRİK et al. (2000) estudando o efeito do Al sobre a absorção e redução de nitrato não observaram nenhum efeito no período de 1 hora de exposição. Somente depois de prolongada exposição ao Al (24 horas) foram observadas reduções na absorção de nitrato e na atividade da RN, principalmente nas regiões apicais do sistema radicular.

A atividade “*in vivo*” da RN, à semelhança do que aconteceu com a atividade dessa enzima “*in vitro*”, foi no cultivar tolerante estatisticamente superior à do cultivar sensível nas duas partes da planta, independente da presença de Al (Figura 5). Na presença de Al a diferença entre os cultivares foi ainda maior.



**Figura 5:** Efeito do alumínio sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vivo*” em dois cultivares de arroz, em solução nutritiva. As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre níveis de Al e minúsculas entre os cultivares, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

GANESAN et al (1993), trabalhando com dois cultivares de arroz, ADT 36 (sensível) e Co 37 (tolerante), observaram redução de 12 e 35% na atividade “*in vivo*” da RN na parte aérea do cultivar tolerante e sensível, respectivamente. Segundo esses autores, esta diminuição na atividade da RN indica que o Al pode estar interferindo no processo de síntese da proteína enzimática ou pode ainda estar interagindo com a enzima ativa. No presente experimento, o efeito imediato sobre a configuração da enzima não foi avaliado. Como as plantas ficaram expostas ao Al durante 21 dias mediu-se principalmente o efeito deste íon sobre a biossíntese da RN.

Tanto “*in vivo*” quanto “*in vitro*” a atividade da enzima RN foi afetada diferencialmente pelo Al nos dois cultivares, o que sugere ser esta enzima importante componente do mecanismo de tolerância destes dois cultivares ao Al (CAMBRAIA et al., 1989). Como a absorção de nitrato também foi influenciada, fica evidente a importância do metabolismo nitrogenado nas considerações sobre a toxidez de Al em plantas de arroz ao Al.

Novos trabalhos, portanto, obrigatoriamente tornam-se necessários para se verificar se este é um efeito primário ou apenas consequência dos efeitos do Al sobre outros aspectos do metabolismo vegetal.

#### 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram estudados os efeitos do Al sobre a absorção e a redução de nitrato, em dois cultivares de arroz com tolerância diferencial ao Al, sendo um tolerante (CNA – 1158) e outro sensível (CNA - 6843 – 1).

O cultivar tolerante cresceu mais e produziu mais matéria seca na parte aérea e no sistema radicular, independente da presença de Al. O Al reduziu, significativamente, o comprimento das raízes e da parte aérea e a produção de matéria seca apenas no cultivar sensível. O teor de N-total na presença de Al aumentou significativamente apenas na parte aérea do cultivar tolerante; o teor de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sofreu redução apenas no sistema radicular do cultivar sensível e o de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> não foi significativamente influenciado pela presença de Al nos dois cultivares. O Al reduziu a absorção de nitrato, nos dois cultivares, principalmente no sensível. O K<sub>m</sub> da absorção de nitrato foi afetado nos dois cultivares; no tolerante, houve diminuição de 10,9% enquanto, no sensível, houve aumento de 3,1 vezes. As atividades da RN “*in vivo*” e “*in vitro*” foram significativamente reduzidas pelo Al, nos dois cultivares, exceto na parte aérea do cultivar tolerante. Os resultados sugerem ser a absorção de nitrato e a enzima RN importantes componentes do mecanismo de tolerância ao Al em plantas de arroz.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARCELÓ, R.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environ. Exp. Bot.*, 48:75-92. 2002.
- BUDIKOVA, S. Structural changes and aluminium distribution in maize root tissues. *Biol. Plant.*, 42: 259-266. 1999.
- CALBA, H.; JAILLARD, B. Effect of aluminium on ion uptake and H<sup>+</sup> release by maize. *New Phytol.*, 137: 607-616. 1997.
- CAMBRAIA, J.; CALBO, A.G. Efeito do alumínio sobre a composição mineral de dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Rev. Céres*, 27:369-378. 1980.
- CAMBRAIA, J.; CHANDIAS, J. E. T.; ESTEVÃO, M.M.; SANT'ANNA, R. Efeito do alumínio sobre o balanço iônico e sobre a capacidade das plantas de sorgo para modificar o pH das soluções nutritivas. *Rev. Ceres*, 34:284-292. 1987.
- CAMBRAIA, J.; PIMENTA, J. A.; ESTEVÃO, M. M.; SANT'ANNA, R. Aluminum effects on nitrate uptake and reduction in sorghum. *J. Plant Nutr.*, 12: 1435-1445. 1989.
- CAMBRAIA, J.; SILVA, M. A.; CANO, M. A. O.; SANT'ANNA, R. Método simples para a avaliação de cultivares de sorgo quanto à tolerância ao alumínio. *R. Bras. Fisiol. Veg.*, 3:87-95. 1991.
- CATALDO, D.A.; HAROON, L.E.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-80. 1975.
- CATALDO, D.A.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissue high in nitrate. *Crop Sci.*, 14:854-856. 1974.
- CAWSE, P. A. The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 92: 311-315. 1967.
- CLARK, J. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 458-460. 1975.

- CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. *Plant Physiol.*, 54: 564-568. 1974.
- CUMMING, J. R. Nitrogen source effects on Al toxicity in nonmycorrhizal and mycorrhizal pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings. II. Nitrate reduction and NO<sub>3</sub> uptake. *Can. J. Bot.*, 68: 2653-2659. 1990.
- DELHAIZE, E.; CRAIG, S.; BEATON, C.D.; BENNET, R.J.; JAGADISH, V.C.; RANDALL, P.J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. *Plant Physiol.*, 103:685-693.1993.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.*, 107: 315-321. 1995
- FAGERIA, N. K. Tolerância diferencial de cultivares de arroz ao alumínio em solução nutritiva. *Pesq. Agropec. Bras.*, 1: 1-9. 1982.
- FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P.; CARVALHO, J. R. P. Response of upland rice to phosphorus fertilization on an Oxisol of a Central Brazil. *Agron. J.*, 74: 51-56. 1982.
- FAGERIA, N. K.; CARVALHO, J. R. P. Influence of aluminum in nutrient solutions on chemical composition in upland rice cultivars. *Plant Soil*, 69:31-44.1982.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. The effects of aluminum on growth and uptake of Al and P by rice. *Pesq. Agropec. Bras.*, 24:677-682, 1989.
- FAGERIA, N. K.; ZIMMERMANN, F. J. P. Seleção de cultivares de arroz para tolerância a toxidez de alumínio em solução nutritiva. *Pesq. Agropec. Bras.*, 14: 141-157. 1979.
- FERREIRA, R.P. **Análises biométricas da tolerância de arroz (*Oryza sativa* L.) à toxidez do alumínio.** Tese de Doutorado. 123p. UFV, Viçosa. 1995.
- FOY, C.D. Effects of aluminum on plant growth. In: AEW Carson, Ed. **The Plant Root and its Environmental.** Charlottesville University Press, Virginia, 1974. p. 601-642.
- FOY, C. D.; FLEMING, A. L. Aluminum tolerances of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. *J. Plant. Nutr.*, 5: 1313-1333. 1982
- GANESAN, K.; SANKARANARAYANAN, C.; BALAKUMAR, T. Physiological basis of differential aluminum tolerance in rice genotypes. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 24:2179-2191. 1993.
- GONÇALVES, J.F.C.; PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J. Toxicidade do alumínio em plantas. *Universa*, 8:243-258. 2000.

- HAI, T. V.; NGA, T. T.; LAUDELOUT, H. Effect of aluminium on the mineral nutrition of rice. *Plant Soil*, 114: 173-185. 1989.
- HAWK, P. B., OSER, B. L., SUMMERSON, N. H. **Practical Physiological Chemistry**. N. York, McGraw Hill, 1954. , p. 878-880.
- JAN, F.; PETERSON, S. Effects of low Al levels on growth and nutrient relations in 3 rice cultivars with different tolerance to Al. *J. Plant Nutr.*, 16: 359-372. 1993.
- JAN, F.; PETERSON, S. Aluminium sensitivity of two upland rice cultivars at various levels of nutrient supply. *J. Plant Nutr.*, 18:1323-1335. 1995.
- JAWORSKI, E.G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43:1274-1279. 1971.
- KELTJENS, W.G.; ULDEN, P.S.R. Effects of Al and nitrogen ( $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ ) uptake, nitrate reductase activity and proton release in two sorghum cultivars differing in Al tolerance. *Plant Soil*, 104: 227-234. 1987.
- KLOTZ, F.; HORST, W. J. Genotypic differences in aluminum tolerance of soybean (*Glycine max* L.) as affected by ammonium and nitrate-nitrogen nutrition. *J. Plant Physiol.*, 132: 702-707. 1988.
- KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46:237-260. 1995.
- LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Monitoring of aluminum-induced inhibition of root elongation in four maize cultivars differing in tolerance to aluminum and proton toxicity. *Physiol. Plant.*, 93:265-271. 1995.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2<sup>nd</sup>. Ed., London, Academic Press, 889p. 1995.
- MASSOT, N.; LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Callose production as indicator of aluminum toxicity in bean cultivars. *J. Plant Nutr.*, 22:1-10. 1999.
- MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, E.; TORIKAY, H.; TAKASHI, E. Localization of absorbed aluminium in pea root and its binding to nucleic acids. *Plant Cell Physiol.*, 17:127-137. 1976.
- MENDONÇA, R. J.; CAMBRAIA, J.; OLIVEIRA, J. A.; OLIVA, M. A. Efeito do alumínio na absorção e na utilização de macronutrientes em duas cultivares de arroz. *Pesq. Agropec. Bras.*, 38:843-848. 2003.
- MILIVOJEVIC, D. B.; STOJANOVIC, D. D.; DRINIC, S. D. Effects of aluminium on pigments and pigment-protein complexes of soybean. *Biologia*, 43: 595-597. 2000.

- MISTRİK, I.; TAMAS, L.; HUTTOVA, J. Quantitative changes in maize membrane proteins induced by aluminium. *Biol. Plant.*, 43: 85-91. 2000.
- MISTRİK, I.; PALOVE, B. P.; SKLENAR, J. Effect of aluminium on nitrate uptake and assimilation in maize roots. *Biologia*, 55: 419-423. 2000.
- MORIMURA, S.; MATSUMOTO, H. Effect of aluminum on some properties and template activity of purified pea DNA. *Plant Cell Physiol.*, 19: 429-436, 1978.
- MUGAI, E. N.; AGONG, S. G.; MATSUMOTO, H. Aluminium tolerance mechanisms in *Phaseolus vulgaris* L.: Citrate synthase activity and TTC reduction are well correlated with citrate secretion. *Soil. Sci. Plant nutr.*, 46: 939-950, 2000.
- NEOGY, M.; DATTA, J. K.; MUKHERJI, S.; ROY, A. K. Effect of aluminium on pigment content, Hill activity and seed yield in mungbean. *Indian J. Plant Physiol.*, 6: 381-385. 2001.
- NICHOL, B. E.; OLIVEIRA, L. A.; GLASS A. D. M.; SIDDIQI, M. Y. The effect of aluminum on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate, and phosphate in an aluminum-sensitive cultivar of barley. (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiol.*, 101: 1263-1266. 1993.
- OAKES, A.J.; C.D. FOY. Acid soil tolerance of *Leucaena* greenhouse trials. *J. Plant Nutr.*, 7:1759-1774. 1987.
- OHKI, K. Photosynthesis, chlorophyll, and transpiration responses in aluminum stressed wheat and sorghum. *Crop Sci.*, 26:572-575. 1986.
- PELLET, D. M.; PAPERNIK, L. A.; KOCHIAN, L. V. Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat. *Plant. Physiol.*, 112:591-597. 1996.
- RENGEL, Z. Uptake of aluminum by plant cells. *New Phytol.*, 134:389-406. 1996.
- RENGEL, Z.; ROBINSON, D. L. Competitive Al<sup>3+</sup> inhibition of net Mg<sup>2+</sup> uptake by intact *Lolium multiflorum* roots. I. Kinetics. *Plant Physiol.*, 91:1407-1413. 1989.
- RUFTY, JR. T. W.; MacKOWN, D. B.; LAZOF, D. B.; CARTER, T. E. Effects of aluminium on nitrate uptake and assimilation. *Plant Cell Environ.*, 18: 1325-1331. 1995.
- RUIZ, H. A. Estimativa dos parâmetros cinéticos K<sub>m</sub> e V<sub>max</sub> por uma aproximação gráfico-matemática. *Rev. Ceres*, 32: 79-84. 1985.
- SAMPSON, M.; CLARKSON, D.T.; DAVIES, D.D. DNA synthesis in aluminum-treated roots of barley. *Science*, 148:1476-1477, 1965.

- SANTORO, L. G.; SOARES, T. E.; MAGALHÃES, A. C. Effect of aluminum on nitrate reduction in *Zea mays* L. *Phyton.*, 44: 75-80. 1984.
- SHEN, Z. G.; LIAN, L.; WU, L. H. Responses of two cultivars of winter wheat differing in sensitivity to aluminum toxicity. *Pedosphere.*, 4: 233-241. 1994
- SIVAGURU, M.; FUJIWARA, T.; SAMAJ, J.; BALUSKA, F.; YANG, Z.; OSAWA, H.; MAEDA, T. T.; MORI, T.; VOLKMANN, D.; MATSUMOTO, H. Aluminum-induced 1,3- $\beta$ -D-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminum toxicity in plants. *Plant Physiol.*, 124:991-1005. 2000.
- SIVAGURU, M.; JAMES, M.R.; ANBUDURAI, P.R.; BALAKUMAR, T. Characterization of differential aluminum tolerance among rice genotypes cultivated in south India. *J. Plant Nutr.*, 15: 233-246. 1992.
- SIVAGURU, M.; PALIWAL, K. Differential aluminum tolerance in some tropical rice cultivars: I. Growth performance. *J. Plant Nutr.*, 16:1705-1716. 1993.
- TAMAS, L.; MISTRİK, I. Aluminium induced changes in protein profiles of the first leaf in Al-sensitive and Al-tolerant barley cultivars. *Biologia*, 54: 467-471. 1999.
- WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; OBATA, H.; TAWARAYA, K. K.; KATOHDA, S. Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site for aluminum toxicity in roots. *Plant Soil*, 171:105-112. 1995.
- WANG, C.; WOOD, F. A. A modified aluminon reagent for the determination of aluminum after HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> digestion. *Can. J. Soil Sci.*, 53: 237-239. 1973.
- WU, B. H.; XU, Y. W.; HAN, W. Y. Effect of aluminium on the root growth and the nitrogen nutrition of tea plants. *China Tea*, 17: 28-29. 1995.
- ZANZONOWICZ, C., SMYTH, T. J., ISRAEL, W. Calcium alleviation of hydrogen and aluminum inhibition of soybean root extension from limed soil into acid subsurface solutions. *J. Plant Nutr.*, 21:785-804. 1998.

## APÊNDICE

Quadro 1A: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre o comprimento em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	63,02083	65,33334	22,92*	20,36*
Cultivares	1	295,0208	690,0833	107,28**	215,09**
Al*Espécie	1	72,52084	85,33334	26,37**	26,60**
Resíduo	8	2,749997	3,208341		
CV (%)		7,06	5,68		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 2A: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre a produção de matéria seca em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	0,006120090	0,000630750	27,91**	8,47 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	0,5212501	0,1036021	2377,46**	1390,62**
Al*Espécie	1	0,002268742	0,001220083	10,35 <sup>NS</sup>	16,38*
Resíduo	8	0,000219246	0,000074500		
CV (%)		10,12	10,02		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 3A: Análise de variância sumarizada do teor de Al em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	0,06524654	13,18884	40,77**	264,94**
Cultivares	1	0,02581880	0,1683453	16,13**	0,34 <sup>NS</sup>
Al*Espécie	1	0,01044783	0,01805572	6,53 <sup>NS</sup>	0,36 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	0,001600322	0,04978072		
CV (%)		17,4	14,41		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.  
NS Não-significativo

Quadro 4AA: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre teor de nitrato em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500 µM de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	0,001693337	0,003377816	1,44 <sup>NS</sup>	0,96 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	0,003991917	0,1191291	3,41 <sup>NS</sup>	33,77**
Al*Espécie	1	0,000014115	0,05464041	0,01	15,49*
Resíduo	8	0,001171989	0,003520141		
CV (%)		17,4	5,1		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 4AB: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre teor de N-total em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500 µM de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	0,3188583	0,05415347	4,45 <sup>NS</sup>	0,45 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	3,818269	0,5215194	53,24**	4,32 <sup>NS</sup>
Al*Espécie	1	0,6446091	0,2181588	8,99 <sup>NS</sup>	1,81 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	0,07171632	0,1206053		
CV (%)		6,5	11,29		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 4AC: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre teor de amônia em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500 µM de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	0,000628829	0,000165514	1,61 <sup>NS</sup>	0,60 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	0,007342087	0,01706645	18,76*	62,11**
Al*Espécie	1	0,000006318	0,000637924	0,02 <sup>NS</sup>	2,32 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	0,000391438	0,000274783		
CV (%)		18,79	16,13		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.  
NS Não-significativo

Quadro 5AA: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre o  $K_m$  em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F
		Raízes		Raízes
Níveis de Al	1	1190,220		291,77**
Cultivares	1	1137,827		278,93**
Al*Espécie	1	1516,276		371,70**
Resíduo	8	4,079300		
CV (%)		6,32		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 5AB: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre o  $V_{\text{max}}$  em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F
		Raízes		Raízes
Níveis de Al	1	0,3996759		0,07 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	7,410408		1,24 <sup>NS</sup>
Al*Espécie	1	16,59101		2,77 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	5,989891		
CV (%)		11,35		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo

Quadro 6A: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vitro*” em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500  $\mu\text{M}$  de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	5,715746	0,8289098	30,01**	4,20 <sup>NS</sup>
Cultivares	1	36,09577	7,751397	189,50**	39,24**
Al*Espécie	1	5,087127	0,4773690	26,71**	2,42 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	0,1904789	0,1975580		
CV (%)		7,06	5,68		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.  
 NS Não-significativo

Quadro 7A: Análise de variância sumarizada do efeito do Al sobre a atividade da redutase do nitrato “*in vivo*” em dois cultivares de arroz tratados com 0 e 500 µM de Al

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		F	
		Parte Aérea	Raízes	Parte Aérea	Raízes
Níveis de Al	1	1,707861	8,199391	13,86 <sup>NS</sup>	58,57**
Cultivares	1	39,52530	8,033463	320,71**	57,31 <sup>NS</sup>
Al*Espécie	1	0,5401806	1,578477	4,38 <sup>NS</sup>	11,28 <sup>NS</sup>
Resíduo	8	0,1232428	0,1399957		
CV (%)		7,70	7,45		

\*\* (P<0,01) Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste Tukey.

\* (P<0,05) Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

NS Não-significativo