

TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM PLANTAS: TOXICIDADE, MECANISMOS E GENES EM ESPÉCIES CULTIVADAS

ALUMINUM TOLERANCE IN PLANTS: TOXICITY, MECHANISMS AND GENES IN CULTIVATED SPECIES

LÉO DUC HAA CARSON SCHWARTZHAUPT DA CONCEIÇÃO¹, MARIA JANE CRUZ DE MELO SERENO² & JOSÉ

FERNANDES BARBOSA NETO^{3*}

RESUMO

A toxicidade por alumínio (Al^{3+}) é uma das principais limitações na produtividade de plantas em áreas cultiváveis para diversas espécies de importância agrônômica. Algumas espécies dispõem de mecanismos que capacitam às plantas tolerar os efeitos deste íon tóxico. Nas últimas décadas, diferentes trabalhos têm indicado que os ácidos orgânicos estão envolvidos em mecanismos universais de tolerância ao Al^{3+} , tanto no modo de ação por exclusão, quanto por detoxicação interna. Todavia, estudos fisiológicos comparativos têm demonstrado a possível ocorrência de novos mecanismos ainda desconhecidos. Existe elevada variabilidade genética para o caráter tolerância ao Al^{3+} , porém, em muitos casos, a seleção de cultivares é trabalhosa devido à dificuldade de avaliações em campos experimentais. A identificação de marcadores moleculares associados a genes ou locos controladores de caracteres quantitativos (QTL) é considerada uma importante estratégia. Muitos dos genes identificados nas principais espécies de grãos estão presentes em regiões colineares. Este fato tem facilitado a descoberta de novos genes, assim como a determinação da sua função, quanto à forma de ação e a possibilidade da utilização no melhoramento de plantas.

Palavras-chave: Al^{3+} ; QTL; genes; melhoramento genético.

ABSTRACT

Aluminum toxicity is one of the main limitations for plant production in cultivated area. Some species have mechanisms that allow the plants to tolerate the effects of this toxic ion. In the last decades different works have been indicating that organic acids are involved in universal mechanisms of aluminum tolerance. These substances are acting both in the exclusion phenomenon, as well as in the internal detoxification process. Though comparative physiological studies have been suggesting the possible occurrence of new unknown mechanisms. High genetic variability exists for the trait tolerance to Al^{3+} , even so, in many cases, the selection is difficult due to evaluation difficulties. An important strategy is the identification of molecular markers associated to genes or *loci* responsible for the expression of this quantitative (QTL). Many of the genes identified in the main grain species presented colinearity. This fact has facilitated the discovery of new genes, as well as the determination of their function. This knowledge will allow efficient genetic progress in plant breeding.

Key words: Al^{3+} ; QTL; genes, genetic improvement.

¹ Engenheiro Agrônomo, Dr., Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS.

² Bióloga, Dra., Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS.

^{3*} Engenheiro Agrônomo, PhD., Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, CP 776, 95501-970, Porto Alegre, RS. jfbn@ufrgs.br. *Autor para correspondência.

(Recebido para Publicação em 12/03/2008, Aprovado em 29/07/2008)

INTRODUÇÃO

Em solos tropicais e subtropicais úmidos, com altas precipitações pluviométricas, nutrientes solúveis como cálcio, magnésio, potássio e outros elementos básicos são lixiviados. A remoção de cátions básicos e a degradação da matéria orgânica reduzem o pH do solo. Em pH baixo, o hidrogênio (H^+) atua sobre os minerais liberando íons Al^{3+} , retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo. Desta forma, a quantidade de Al^{3+} em solução disponível para as plantas aumenta com a acidez do solo. Aproximadamente 30% das áreas de terra do planeta são constituídas de solos ácidos, somando 50% das terras potencialmente cultiváveis (KOCHIAN *et al.*, 2004). Muitas espécies de plantas são sensíveis a reduzidas concentrações de Al^{3+} . Desta forma, o Al^{3+} é o principal impedimento na produção, reduzindo o rendimento das culturas em solos nesta condição (DELHAIZE & RYAN, 1995). Por estas razões, os melhoristas têm empenhado esforços na busca de genótipos tolerantes ao Al^{3+} .

RELAÇÃO ALUMÍNIO-PLANTA

Progressos na definição e conhecimento dos mecanismos de tolerância ao alumínio dependem da compreensão da reação das plantas a este elemento em sua forma tóxica (BENNET & BREEN, 1991). Em plantas, são vários os sintomas das injúrias causadas pelo Al^{3+} . Em algumas espécies os sintomas nas folhas são semelhantes a sintomas de deficiência de P^{2+} , em outras, semelhantes à deficiência de Ca^{2+} ou de Fe^{3+} . O sintoma mais perceptível de toxicidade ao Al^{3+} é a inibição do crescimento das raízes. A região meristemática das raízes principais e laterais engrossa e exibe uma coloração mais escura, sendo ineficiente na absorção de nutrientes e água (FOY *et al.*, 1978). Em soluções com nutrientes simples, concentrações micromolares de alumínio podem inibir o crescimento de raízes em 60 minutos (DELHAIZE & RYAN, 1995).

Alguns autores têm levantado hipóteses e evidências a respeito do sítio primário de efeito tóxico do Al^{3+} , relacionado com o deslocamento do Ca^{2+} do apoplasto por competição por ligantes na membrana plasmática ou pela redução da entrada e transporte do Ca^{2+} para as células (RENGEL, 1992). Entretanto, trabalhos realizados por RYAN *et al.* (1994; 1997b) mostraram que o Al^{3+} inibia o crescimento das raízes de genótipos sensíveis de trigo, sem impedir a entrada do Ca^{2+} . Em trabalhos realizados com milho foi observado que o aumento do Ca^{2+} na solução contribuía para o

aumento do comprimento de raiz das plantas tratadas na presença ou na ausência do alumínio Al^{3+} (CANAL & MIELNICZUK, 1983). CAMBRAIA & CAMBRAIA (1995) constataram que o comprimento da raiz em milho sensível reduziu significativamente na presença de Ca^{2+} e Al^{3+} , entretanto, para o híbrido tolerante, essa redução ocorreu apenas no tratamento com Al^{3+} e ausência de Ca^{2+} . O cálcio possui função relevante na formação da lamela média das células e na absorção de nutrientes.

O ápice radicular acumula mais Al^{3+} , demonstrando maiores danos físicos do que tecidos radiculares maduros (DELHAIZE & RYAN, 1995). De fato, somente os 2 a 3 mm apicais em raízes de milho (coifa e meristema) necessitam ser expostos para o crescimento ser inibido. Quando o Al^{3+} é aplicado seletivamente na zona de alongação ou em toda raiz, exceto no ápice, o crescimento não é afetado (RYAN *et al.*, 1993). BENNET & BREEN (1991) sugeriram que o Al^{3+} poderia inibir o crescimento da raiz via uma rota sinal-resposta envolvendo coifa, hormônios e mensageiros secundários. Entretanto, RYAN *et al.* (1993) mostraram que os efeitos causados pelo Al^{3+} em milho não eram cessados em raízes sem coifa, realçando a importância do meristema. Sendo assim, o sítio primário de toxicidade do Al^{3+} está localizado no ápice e pesquisas em mecanismos de tolerância devem ser focadas nesta região da raiz (KOCHIAN *et al.*, 2004).

Em relação aos processos responsáveis pela inibição do crescimento da raiz, existem dúvidas se é causada pela redução da divisão celular ou pela expansão das células radiculares. Outra questão é se os efeitos tóxicos são devido ao Al^{3+} presente no apoplástico ou simplástico (DELHAIZE & RYAN, 1995; BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2002). A inibição do crescimento da raiz tem sido considerada como o resultado de distúrbios na divisão celular de sua região meristemática e, por consequência, a interrupção da mitose (NICHOL & OLIVEIRA, 1995). MORIMURA & MATSUMOTO (1978) propuseram que polímeros de Al^{3+} poderiam estar ligados a fosfatos do DNA causando estabilização da dupla fita e, conseqüentemente, resultando em um decréscimo da atividade de duplicação. Contudo, algumas evidências reforçam argumentos contra esta hipótese. A rápida inibição do crescimento da raiz ocorre dentro de poucos minutos de exposição ao Al^{3+} , e a complexação do Al^{3+} apoplástico pelo citrato permite a recuperação da taxa de crescimento (HORST, 1995). Da mesma forma, WALLACE & ANDERSON (1984) observaram que a inibição induzida por Al^{3+} no crescimento radicular precedia qualquer efeito mensurável na síntese de DNA. Os autores concluíram que o Al^{3+} teria dois efeitos: rápida inibição do crescimento radicular, seguido pela inibição na síntese de DNA. Entretanto, apesar do Al^{3+} ser insolúvel à membrana plasmática, não só ele cruza essa membrana, como metade do Al^{3+} presente no ápice radicular encontra-se no simplasto

(DELHAIZE & RYAN, 1995). Desta forma, ambos (apoplástico e simplástico) podem estar envolvidos na toxicidade ao Al^{3+} (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2002). Contudo, é válido considerar que o Al^{3+} tem rápido acesso ao apoplasto e que interações com a parede celular e a membrana precedem qualquer transporte para dentro do simplasto. Assim, qualquer interação é potencialmente nociva pela complexação do Al^{3+} com elementos envolvidos em processos metabólicos, como por exemplo, enzimas, tubulinas, ATP e DNA (DELHAIZE & RYAN, 1995).

MECANISMOS DE TOLERÂNCIA

Há um consenso de que a tolerância ao Al^{3+} em plantas deve ser mediada em nível celular. Mecanismos de tolerância ao Al^{3+} operando em diferentes espécies de plantas estão divididos em dois grupos. No grupo formado pelos mecanismos de exclusão, estão incluídos mecanismos a exsudação das raízes de ligantes orgânicos que complexam o Al^{3+} , ligantes ao Al^{3+} contidos na mucilagem secretada pelas raízes, efluxo do Al^{3+} acumulado e alteração no pH da rizosfera. No outro grupo, formado pelos mecanismos de destoxicação interna, estão incluídos a fixação do Al^{3+} na parede celular, a complexação no simplasto via ligantes orgânicos e o sequestro no vacúolo (KOCHIAN *et al.*, 2004). As primeiras publicações importantes relacionadas com este mecanismo foram apresentadas em trabalhos realizados com trigo no início da década de 90. RINCÓN & GONZALEZ (1992) observaram que o nível de sensibilidade ao Al^{3+} estava correlacionado com a concentração do elemento nos meristemas, sugerindo que a exclusão metabólica nos meristemas era um mecanismo importante de tolerância. DELHAIZE *et al.* (1993a) observaram coloração diferencial por hematoxilina entre os genótipos contrastantes para um loco de tolerância ao alumínio (*Alt1*), correlacionando com o crescimento relativo da raiz e acumulação de Al^{3+} no ápice nos 2 a 3 mm terminais. Os ápices radiculares de plantas sensíveis acumularam de cinco a dez vezes mais Al^{3+} do que plantas tolerantes. DELHAIZE *et al.* (1993b) investigaram a função dos ácidos orgânicos e verificaram que a presença do Al^{3+} na solução nutriente estimulava a secreção de ácido málico. Os autores constataram ainda que os 3 a 5 mm terminais da raiz

formavam a fonte primária do ácido orgânico secretado, havendo correlação entre tolerância e secreção elevada de malato na população segregante, demonstrando que *Alt1* codificaria para um mecanismo baseado na exudação de malato estimulado pelo Al^{3+} . Diante destes resultados, DELHAIZE & RYAN (1995) lançaram um esquema hipotético da interação entre o Al^{3+} e um possível canal de ânions de malato, codificado por *Alt1*, presente na membrana que estimularia o efluxo de malato (Figura 1). Desta forma, trabalhos para uma melhor caracterização do efluxo de malato e verificação da existência deste canal de ânions de malato foram iniciados (RYAN *et al.*, 1995; RYAN *et al.*, 1997a). ZHANG *et al.* (2001) encontraram estímulos gerados pelas cargas negativas dos ânions de malato na membrana, constatando que as correntes geradas pelos protoplastos de plantas tolerantes eram mais intensas e duráveis.

Recentemente o gene *ALMT1* (*aluminum-activated malate transporter*) foi clonado, sendo demonstrado que é expresso constitutivamente no ápice das raízes de plântulas de trigo e que codifica para uma proteína trans-membrana, um transportador ativado por Al^{3+} que facilita o efluxo de malato (SASAKI *et al.*, 2004). No mesmo ano, a cevada foi transformada com o gene *ALMT1*, a expressão do gene de trigo conferiu efluxo similar de malato ativado por Al^{3+} e elevada tolerância ao Al^{3+} (DELHAIZE *et al.*, 2004).

Estudos realizados também têm desvendado mecanismos de destoxicação interna. A espécie *Hydrangea macrophylla* apresenta uma variação de cores avermelhadas a azuladas de acordo com a variação do pH do solo. MA *et al.* (1997a) constataram que esta espécie poderia acumular até 300 mg Kg⁻¹ de matéria seca nas folhas, formando o complexo Al-citrato. A cor azul nas sépalas é devido à ação estabilizante do Al^{3+} na formação do complexo com outros compostos orgânicos (*delphinidin 3-glucoside* e *3-caffeoylquinic acid*). Em trigo mourisco, outra espécie acumuladora de Al^{3+} , além de um mecanismo de exclusão pela exudação de oxalato no ápice das raízes induzido por Al^{3+} , a elevada tolerância é explicada pela existência de um mecanismo interno (ZHENG *et al.*, 1998). Estudos realizados sobre a possível existência deste mecanismo interno constataram a presença de complexos Al^{3+} e oxalato nas raízes e nas folhas, entretanto, sua translocação no xilema, das raízes para as folhas, ocorre no complexo Al^{3+} e citrato,

havendo uma troca de ligantes orgânicos (MA *et al.*, 1997b; MA *et al.*, 1998; MA & HIDRANTE, 2000). Nas folhas o Al^{3+} é sequestrado no vacúolo das células (SHEN *et al.*, 2002),

podendo acumular mais de 15000 mg kg^{-1} de Al^{3+} quando desenvolvido em solo ácido.

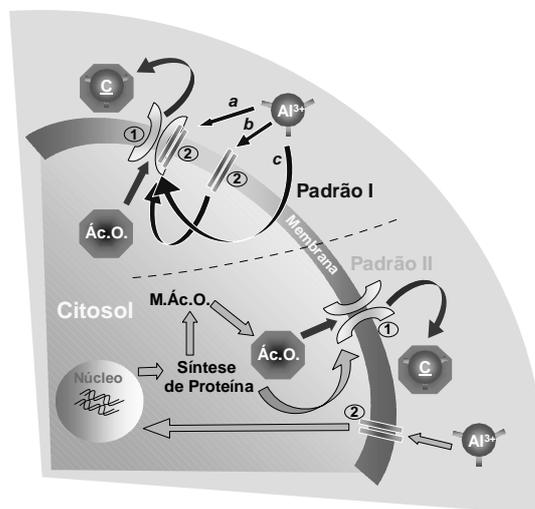


FIGURA 1 - Mecanismo de exclusão pela exudação de ácidos orgânicos nas raízes (DELHAIZE & RYAN, 1995; MA *et al.*, 2001). O Padrão I possui uma resposta imediata pela ativação do canal de ânions, com três possíveis caminhos: a) o Al^{3+} interage diretamente com o canal de ânions (1) de ácidos orgânicos (Ác.O.) ou via receptor (2) ligado ao canal, ativando-o; b) o Al^{3+} interage com um receptor específico na membrana plasmática ou com a própria membrana, ativando o canal via mensageiro secundário sinal-cascata; c) o Al^{3+} entra no citosol e ativa o canal diretamente ou indiretamente via mensageiro secundário. O Padrão II possui uma fase de retardo na inibição das raízes e exudação dos ácidos orgânicos. O Al^{3+} interage com a célula, provavelmente via receptor na membrana, ativa a transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo (M.Ác.O.) ou transporte de ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos complexam (C) o alumínio tornando em uma forma não fitotóxica.

As pesquisas em milho têm apontado para um mecanismo de exclusão semelhante ao trigo, com a exudação de ânions de citrato no ápice da raiz. PIÑEROS & KOCHIAN (2001) verificaram a indução de corrente interna na presença de Al^{3+} , seletiva a ânions, em protoplastos de genótipos tolerantes, extraídos das células do ápice das raízes de milho. A existência de canais de ânions dependentes de Al^{3+} indicou que a maquinaria requerida para ativação destes canais estava presente na membrana. Em trabalhos subsequentes, PIÑEROS *et al.* (2002) sugeriram que este transportador, o canal de ânions presente em protoplastos, era responsável pela liberação de citrato induzida por Al^{3+} em raízes intactas. Desta forma, de acordo com o modelo proposto por DELHAIZE & RYAN (1995), a possibilidade da ativação via sinal-cascata envolvendo componentes do citosol é descartada, permanecendo apenas a ativação direta do canal ou via receptor de membrana. No entanto, a resposta através da exudação de citrato na cultivar de milho Cateto-Colombia utilizado por PIÑEROS *et al.* (2002) foi exclusivamente dependente do Al^{3+} , não constitutiva, e observada dentro de 30 minutos a taxas constantes durante quatro dias. Por outro lado, a cultivar SA3 exibiu liberação constitutiva de citrato,

apresentando uma fase de retardo antes de atingir o máximo na liberação de citrato nas raízes (PELLET *et al.*, 1995). Estas evidências colaboraram com a afirmativa de que em milho estão presentes os dois padrões de resposta do mecanismo de exclusão (MA *et al.*, 2001), demonstrando toda a complexidade do caráter tolerância nesta espécie. Em um estudo fisiológico comparativo realizado por PIÑEROS *et al.* (2005) foi verificado que a tolerância em Al^{3+} em milho não poderia ser explicada somente pela exsudação de ácidos orgânicos na raiz. Os autores não detectaram correlação entre exclusão do Al^{3+} no ápice radicular, baseado no conteúdo de Al^{3+} na raiz, e tolerância ao Al^{3+} , assim como não houve correlação entre tolerância diferencial e liberação de citrato nas raízes. Os autores ainda investigaram a possibilidade de outros mecanismos estarem envolvidos, além da exclusão nas raízes dos genótipos tolerantes, como outros compostos orgânicos queladores, alcalinização do pH da rizosfera, mudanças internas de compostos queladores na raiz e translocação de Al^{3+} por complexos com compostos orgânicos. Entretanto, nada foi encontrado. Estudos recentes em duas espécies forrageiras do gênero *Brachiaria* spp. têm apontado para possíveis novos mecanismos, indicando um mecanismo de

destoxicação interna mediado por citrato (WENZL *et al.*, 2001; WENZL *et al.*, 2002).

GENÉTICA DA TOLERÂNCIA

O entendimento da natureza da herança do caráter é de extrema importância para a decisão dos procedimentos mais adequados a serem adotados para a seleção de genótipos com maior grau de tolerância. Na cultura do trigo, alguns cultivares apresentam herança complexa, indicando a presença de diversos genes aditivos (ANIOL & GUSTAFSON, 1984). Entretanto, a grande maioria dos estudos genéticos aponta para uma herança simples envolvendo um ou dois locos (NODARI *et al.*, 1982; LAGOS *et al.*, 1991). O gene maior dominante em trigo foi chamado *Alt2* (LUO & DVORAK, 1996) ou *Alt_{BH}* (RIEDE & ANDERSON, 1996), sendo esse gene mapeado no cromossomo 4DL (MILLA & GUSTAFSON, 2001). Trata-se provavelmente do mesmo gene *Alt1* em trigo identificado por DELHAIZE *et al.* (1993a), que codifica para um transportador de ânions de malato ativado por Al^{3+} (SAZAKI *et al.*, 2004). O gene maior de tolerância ao Al^{3+} em centeio (*Alt3*) foi mapeado no braço longo do cromossomo 4 (MIFTAHUDIN *et al.*, 2002). Em cevada, o maior loco de tolerância ao alumínio (*Alp*) está localizado no braço longo do cromossomo 4 (MINELLA & SORRELLS, 1992). Diversos autores relataram a possibilidade dos três locos, *Alt_{BH}*, *Alt3* e *Alp*, pertencentes aos três membros da tribo Triticeae, serem ortólogos, visto que marcadores em comum estão fortemente ligados a estes locos nas três espécies, especialmente o marcador

BCD1230 (MAGALHÃES *et al.*, 2004; KOCHIAN *et al.*, 2004; WIGHT *et al.*, 2006) (Figura 2).

Estudos de QTL para o caráter tolerância ao Al^{3+} em arroz demonstram que esta espécie possui diversos genes responsáveis pelo controle desse caráter, sendo complexo e quantitativamente herdado (NGUYEN *et al.*, 2002; NGUYEN *et al.*, 2003). Entre as diversas regiões cromossômicas apontadas por estes estudos, destaca-se o QTL encontrado no cromossomo 1, que explica grande parte da variância encontrada no caráter. O cromossomo 3 também possui um QTL que é frequentemente relatado nestes estudos. MAGALHÃES *et al.* (2004) identificaram um gene maior para sorgo, o loco *Alt_{SB}*. Neste mesmo estudo foi realizado um mapeamento comparativo utilizando sondas localizadas no cromossomo 4 e próximo ao gene maior das espécies da tribo Triticeae e na região sintênica da cultura do sorgo, o grupo de ligação C. Entretanto, o gene *Alt_{SB}* foi localizado no grupo de ligação G, contido em uma porção homeóloga à região do QTL localizado no cromossomo 1 em arroz, o mais importante desta espécie, possuindo em comum forte ligação ao marcador ISU68 (Figura 2). Entre o arroz e o gene maior da tribo Triticeae existe em comum a sintenia entre o cromossomo 3 e os cromossomos grupo 4, respectivamente. Sendo assim, existe a possibilidade de ortologia entre o importante QTL localizado no cromossomo 3 e o loco da tribo Triticeae devido a forte ligação marcador CDO1395 (NGUYEN *et al.*, 2003) (Figura 2).

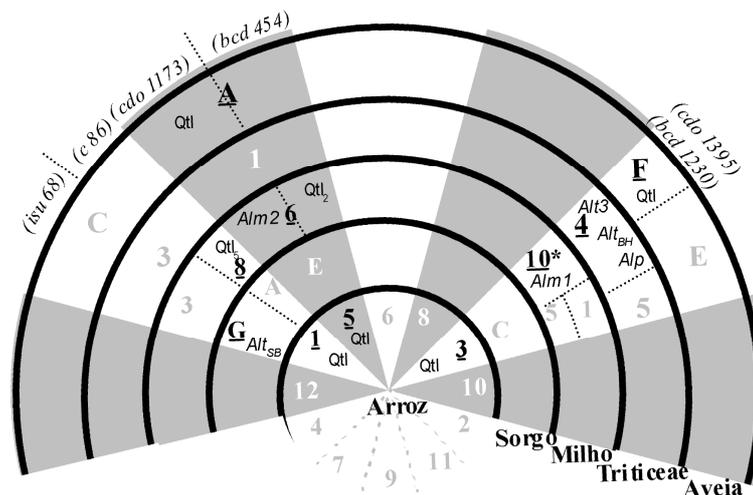


FIGURA 2 - Esquema de regiões mapeadas para tolerância ao alumínio em espécies da família Poaceae (GALE & DEVOS, 1998).

As espécies do gênero *Avena* estão entre as mais tolerantes ao íon tóxico (Al^{3+}). Em um trabalho realizado por WIGHT *et al.* (2006) com o diplóide *Avena strigosa*,

considerada a espécie mais tolerante do gênero, os autores identificaram quatro QTL. O QTL que explicou maior parte da variância, cerca de 39%, pertencente ao grupo de ligação F,

contendo os marcadores BCD1230 e CDO1395, é provavelmente ortólogo ao gene encontrado na tribo Triticeae, ao QTL menor em arroz localizado no cromossomo 3 e ao gene *Alm1* em milho. Quanto ao quarto QTL, pertencente ao grupo de ligação A, existe a possibilidade de ser ortólogo ao gene *Alm2* em milho devido à proximidade com os marcadores CDO393 e CDO1173 (Figura 2). Existem divergências em relação ao modo de herança do caráter tolerância ao Al^{3+} em milho. BRONDANI & PAIVA (1996) observaram que o caráter tolerância ao alumínio apresentava herança quantitativa, havendo ocorrência de interações alélicas de dominância. A existência de um gene maior dominante para tolerância à toxicidade ao Al^{3+} foi relatada por RHUE *et al.* (1978) e GARCIA JÚNIOR & SILVA (1979). Em trabalhos realizados por MAGNAVACA & BAHIA FILHO (1995) os autores demonstraram que a tolerância ao Al^{3+} era um caráter de herança quantitativa, ressaltando a importância de genes de efeitos aditivos, no entanto, os autores não descartaram uma menor influência de efeitos de dominância. Em estudo de herança e mapeamento realizado por CONCEIÇÃO (2006), o cruzamento dialélico entre linhagens sensíveis e tolerantes indicou que a tolerância era baseada na ação aditiva de genes complementares, entretanto, a superioridade de certas combinações específicas evidenciou a importância de genes não-aditivos. Em estudo realizado sobre a genética da tolerância ao Al^{3+} identificaram uma linhagem altamente tolerante (linhagem Ip 48-5-3) e constataram que a tolerância no material estudado era devido à ação gênica aditiva de genes menores.

SIBOV *et al.* (1999) identificaram dez marcadores de RFLP co-segregando com a tolerância ao Al^{3+} em uma população gerada pelo cruzamento entre uma variante somaclonal fortemente sensível ao Al^{3+} (S1587-17) e uma linhagem de milho tolerante (Cat-100-6). Foram identificados dois locos, um no braço curto do cromossomo 6, chamado de *Alm2*, e outro no braço curto do cromossomo 10, sendo este, chamado *Alm1*, com efeito superior e responsável pela maior parte da variação fenotípica do caráter. Marcadores que flanqueiam a região do loco *Alm2*, como CDO1173, estão localizados no cromossomo 5 em arroz na mesma vizinhança de um QTL identificado por NGUYEN *et al.* (2001). O marcador CDO1395, ligado ao gene maior da tribo Triticeae *Alp*, a exemplo das comparações realizadas com o

QTL encontrado no cromossomo 3 em arroz, está localizado no cromossomo 10 em milho na região do marcador UMC130, ligado ao loco *Alm1*, indicando que estes genes também podem ser ortólogos (Figura 2). Em trabalhos realizados pela Embrapa foram identificadas cinco regiões genômicas. No estudo foram utilizadas famílias $F_{3:4}$ derivadas do cruzamento entre as linhagens L53, sensível ao alumínio e originada da variedade de polinização aberta CMS11(Pool 21), e a linhagem L1327, tolerante ao Al^{3+} e originada do Cateto Colômbia. Os cinco QTL localizados nos cromossomos 2, 6 e 8, explicaram 60% da variação fenotípica encontrada (Figura 3). O marcador UMC043, localizado no cromossomo 5, foi associado ao caráter. Porém, esta ligação não foi definida como QTL pelo mapeamento por intervalo, devido à impossibilidade de flanqueamento com outros marcadores na região identificada (NINAMANGO-CÁRDENAS *et al.*, 2003). Segundo os autores, este marcador (umc043) está localizado na mesma região do gene *mdh5* que codifica para malato desidrogenase; enquanto o QTL₄, localizado no cromossomo 8, está próximo ao loco *idh1* que codifica para isocitrato desidrogenase (Figura 3). Ambas as enzimas estão presentes no ciclo de ácidos tricarboxílicos (TCA) e em outras reações envolvidas no metabolismo de ácidos orgânicos. O QTL₂ identificado no cromossomo 6, foi localizado em uma região próxima ao loco *Alm2* identificado por SIBOV *et al.* (1999) (Figura 3). CONCEIÇÃO (2006) identificou cinco associações com marcadores SSR em milho. No cromossomo 10, o marcador associado ao caráter tolerância ao Al^{3+} está localizado próximo ao marcador CSU359 (bin 10,01) (Figura 3). A sequência que origina o marcador CSU359 é homóloga a um gene que codifica para uma proteína induzida pelo Al^{3+} em trigo (WIGHT *et al.*, 2006). Esta proteína é codificada pelo gene *wali7* que tem sua expressão aumentada no ápice radicular, induzida pela exposição ao Al^{3+} (RICHARDS *et al.*, 1994). A identificação deste QTL no cromossomo 10 junto ao marcador CSU359 deixa dúvida sobre a existência de um ou dois locos neste cromossomo, visto que próximo a esta região está localizado o loco *Alm1* (bin 10,03) (Figura 3). A associação encontrada no cromossomo 8 (bin 8,05) localiza-se exatamente na região do gene *dh1* (bin 8,05) e muito próximo ao QTL₄ (bin 8,04) identificado por NINAMANGO-CÁRDENAS *et al.*

(2003), a exemplo do QTL identificado no cromossomo 6 na mesma região do QTL₃ (bin 6,05) (Figura 3). Segundo WIGTH *et al.* (2006), embora o grau de tolerância nas espécies seja medido por danos causados no sistema radicular em plantas, diferentes métodos são usados para impor e acessar estes danos, assim como, diferentes marcadores associados, podem não estar segregando na população a ser investigada.

métodos estatísticos são aplicados. Além do mais, em estudos comparativos, devem ser considerados também fatores inerentes à variabilidade genética inter-específica ou intra-específica. Diferentes genes responsáveis pelo caráter, ou marcadores associados, podem não estar segregando na população a ser investigada. Todas as regiões mapeadas estão representadas junto a seus respectivos bins. Dentro dos retângulos em branco os locos CSU359, *mdh5* e *idh1*.

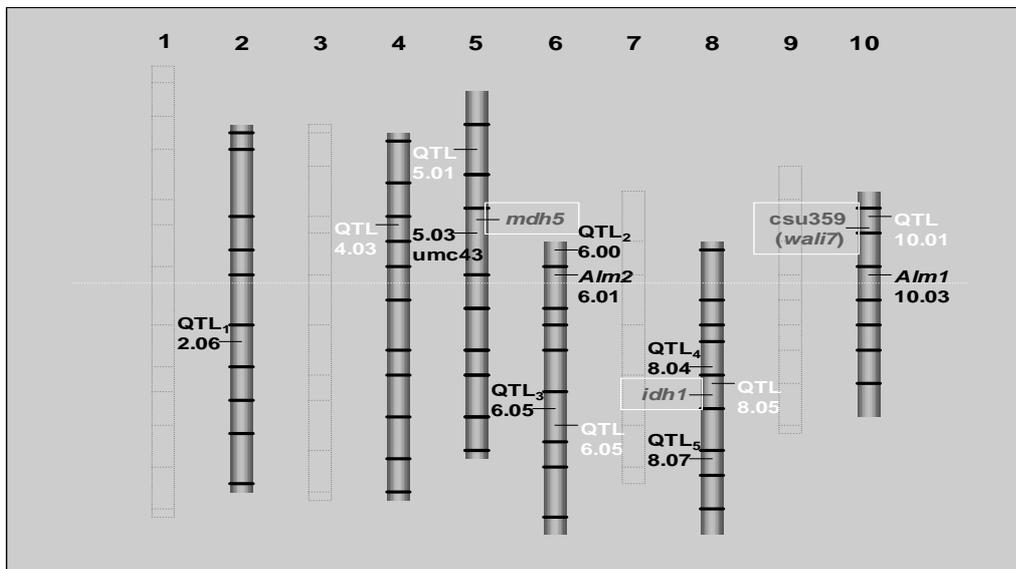


FIGURA 3 - Mapeamento da tolerância ao alumínio em milho (*Zea mays*). Os QTL em branco representam as regiões identificadas por CONCEIÇÃO (2006). Os QTL numerados de 1 a 5 e o marcador UMC43 representam as regiões identificadas por NINAMANGO-CÁRDENAS *et al.* (2003). Os locos *Alm1* e *Alm2* são referentes ao mapeamento realizado por SIBOV *et al.* (1999).

CONCLUSÕES

Apesar dos danos que o Al³⁺ causa em diversas espécies cultivadas, estudos comparativos dos genes responsáveis pela expressão em resposta a estresses ambientais em plantas, principalmente em cereais, indicam uma possível conservação. Entretanto, a variedade de mecanismos indica diferentes funções (genes), ou mudança de funções (alelos) adquiridas durante a evolução e divergência das espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J.M.V. **Identificação e seleção, em casa de vegetação, de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.)**

tolerantes ao alumínio e ao manganês com modificações das características químicas do solo. Porto Alegre, 1976.

100p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ANIOL, A.; GUSTAFSON, J.P. Chromosome location of genes controlling aluminum tolerance in wheat, rye and

triticale. **Canadian Journal of Genetic and Cytology**, Ottawa, v.26, p.701-705, 1984.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues

to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: **Annual Review of Environmental Experimental Botany**, Elmsford, v.48, p.75-92, 2002.

BENNET, R.J.; BREEN, C.M. The aluminium signal: new dimensions to mechanisms of aluminium tolerance. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.134, p.153-166, 1991.

BRONDANI, C.; PAIVA, E. Análise de RFLP da tolerância à toxidez do alumínio no cromossomo 2 do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.8, p.575-579, 1996.

CAMBRAIA, J.; CAMBRAIA, M.C. Avaliação de híbridos de milho quanto à tolerância ao alumínio, em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v.42, n.241, p.297-307, 1995.

CANAL, I.N.; MIELNICZUK, J. Parâmetros de absorção de potássio em milho (*Zea mays* L.), afetadas pela interação alumínio-cálcio. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.35, n. 3, p. 336-340, 1983.

CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. **Herança da tolerância à toxicidade ao alumínio (Al³⁺) em milho e identificação de regiões cromossômicas associadas ao caráter**. Porto Alegre, 2006. 98p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

DELHAIZE, E.; CRAIG, S.; BEATON, C.D. et al. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. **Plant Physiology**, Lancaster, v.103, p.685-693, 1993a.

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

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R.; HEBB, D.M. et al. Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the *ALMT1* gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.101, n.42, p.15249-15254, 2004.

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**, Lancaster, v.103, p.695-702, 1993b.

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

GALE, M.D.; DEVOS, K.M. Comparative genetics in the grasses. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.95, p.1971-1974, 1998.

GARCIA JÚNIOR, O.; SILVA, W.J. Análise genética da tolerância ao alumínio em milho. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.31, p.585, 1979.

HORST, W.J. The role of the apoplast in aluminum toxicity and resistance of higher plants: a review. **Zeitschrift für Pflanzenernähr, Boden**, v.158, p.419-428, 1995.

KOCHIAN, L.V.; HOEKENGA, O.A.; PIÑEROS, M.A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.55, p.459-93, 2004.

LAGOS, M.B.; FERNANDES, M.I.M.; CAMARGO, C.E. 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.

LI, X.F.; MA J.F.; MATSUMOTO, H. Pattern of aluminum-induced secretion of acids differs between rye and wheat. **Plant Physiology**, Lancaster, v.123, p.1537-1543, 2000.

LUO, M.; DVORAK, J. Molecular mapping of an aluminum tolerance locus on chromosome 4D of Chinese Spring wheat. **Euphytica**, Wageningen, v.91, p.31-35, 1996.

MA, J.F.; HIRADATE, S. Form of aluminium for uptake and translocation in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). **Planta**, Heidelberg, v.211, p.355-360, 2000.

MA, J.F.; HIRADATE, S.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat: II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally. **Plant Physiology**, Lancaster, v.117, p.753-759, 1998.

MA, J.F.; HIRADATE, S.; NOMOTO, K.; IWASHITA, T. et al. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea: Identification of Al form in the leaves. **Plant Physiology**, Lancaster, v.113, p.1033-1039, 1997a.

MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.6, p.273-278, 2001.

MA, J.F.; TAKETA, S.; YANG, Z.M. Aluminum tolerance genes on the short arm of chromosome 3R are linked to organic acid release in triticale. **Plant Physiology**, Lancaster, v.122, p.687-694, 2000.

MA, J.F.; ZHENG, S.J.; MATSUMOTO, H. et al. Detoxifying aluminum with buckwheat. **Nature**, London, v.390, p.569-570, 1997b.

MAGALHÃES, J.V.; GARVIN, D.V.; WANG, Y. et al. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae. **Genetics**, Pittsburgh, v.167, p.1905-1914, 2004.

MAGNAVACA, R.; BAHIA FILHO, A.F.C. Seleção de milho para tolerância a alumínio. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL, 1992, Belo Horizonte, **Anais: O milho em perspectiva**. México: CIMMYT/UNDP, 1995. p. 369-394.

MIFTAHUDIN; SCOPEL, G.J.; GUSTAFSON, J.P. AFLP markers tightly linked to the aluminum-tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.104, p.626-631, 2002.

MILLA, M.A.R.; GUSTAFSON, J. P. Genetic and physical characterization of chromosome 4DL in wheat. **Genome**, Ottawa, v.44, p.883-892, 2001.

MINELLA, E.; SORRELLS, M.E. Aluminum tolerance in barley genetic relationships among genotypes of diverse origin. **Crop Science**, Madison, v.32, p.593-98, 1992.

MORIMURA, S.; MATSUMOTO, H. Effect of aluminum on some properties and template activity of purified pea DNA. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.9, n.3, p.429-436, 1978.

NGUYEN, B.D.; BRAR, D.S.; BUI, B.C. et al. Identification and mapping of the QTL for aluminum tolerance introgressed from the new source, *Oryza rufipogon* Griff., into indica rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.106, p.583-593, 2003.

NGUYEN, V.; NGUYEN, B.; SARKARUNG, S. et al. Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: comparison of different genetic backgrounds. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v.267, p.772-780, 2002.

NGUYEN, V.T.; BUROW, M.D.; NGUYEN, H.T. et al. Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.102, p.1002-1010, 2001.

NICHOL, B.E.; OLIVEIRA, L.A. Effects of aluminum on the growth and distribution of calcium in roots of an aluminum-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, p.1849-1858, 1995.

NINAMANGO-CÁRDENAS, F.E.; GUIMARÃES, C.T.; MARTINS, P.R. et al. Mapping QTLs for aluminum tolerance in maize. **Euphytica**, Wageningen, v.130, p.223-232, 2003.

NODARI, R.; CARVALHO, F.I.F.; FEDERIZZI, L.C. Genetic

R. Bras. Agrobiologia, Pelotas, v.14, n.3-4, p.01-10, jul-set, 2008

bases of inheritance of Al-toxicity tolerance in wheat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.269-280, 1982.

PELLET, D.M.; GRUNES, D.L.; KOCHIAN, L.V. Organic acid exudation as an aluminum tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). **Planta**, Heidelberg, v.196, p.788-795, 1995.

PIÑEROS, M.A.; KOCHIAN, L.V. A patchclamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize, identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. **Plant Physiology**, Lancaster, v.125, p.292-305, 2001.

PIÑEROS, M.A.; MAGALHÃES, J.V.; ALVES, V.M.C. et al. The physiology and biophysics of an aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**, Lancaster, v.129, p.1194-1206, 2002.

PIÑEROS, M.A.; SHAFF, J.E.; MANSLANK, H.S. et al. Aluminum resistance in maize cannot be solely explained by root organic acid exudation. A comparative physiological study. **Plant Physiology**, Lancaster, v.137, p.231-241, 2005.

RENGEL, Z. Role of calcium in aluminum toxicity. **The New Phytologist**, Cambridge, v.121, p.499-513, 1992.

RHUE, R.D.; GROGAN, C.O.; STOCKMEYER, E.W. et al. Genetic control of aluminum tolerance in corn. **Crop Science**, Madison, v.18, p.1063-1067, 1978.

RICHARDS, K.D.; SNOWDEN, K.; GARDNER, R.C. *Wali6* and *Wali7* genes induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots. **Plant Physiology**, Lancaster, v.105, p.1455-1456, 1994.

RIEDE, C.R.; ANDERSON, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. **Crop Science**, Madison, v.36, p.905-909, 1996.

RINCÓN, M.; GONZALEZ, R.A. Aluminum partitioning in intact roots of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Plant Physiology**, Lancaster, v.99, p.1021-1028, 1992.

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

RYAN, P.R.; DELHAIZE, E.; RANDALL, P.J. Characterization of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. **Planta**, Heidelberg, v.196, p.103-110, 1995.

RYAN, P.R.; KINRAIDE, T.B.; KOCHIAN, L.V. Al³⁺-Ca²⁺ interactions in aluminum rhizotoxicity. I. Inhibition of root

growth is not caused by reduction of calcium uptake. **Planta**, Heidelberg, v.192, p.98-103, 1994.

RYAN, P.R.; REID, R.J.; SMITH, F.A. Direct evaluation of the Ca²⁺-displacement hypothesis for Al toxicity. **Plant Physiology**, Lancaster, v.113, p.1351-1357, 1997b.

RYAN, P.R.; SKERRETT, M.; FINDLAY, G.P. et al. Aluminum activates an anion channel in the apical cells of wheat roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.94, p.6547-6552, 1997a.

SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; EZAKI, B. et al. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. **Plant Journal**, Oxford, v.37, p.645-653, 2004.

SAWAZAKI, E.; FURLANI, P.R. Genética da tolerância ao alumínio em milho cateto. **Bragantia**, Campinas, v.46, p.269-278, 1987.

SHEN, R.; MA, J.; KYO, M.; IWASHITA, T. Compartmentation of aluminium in leaves of an Al-accumulator, *Fragopyrum esculentum* Moench. **Planta**, Heidelberg, v.215, p.394-398, 2002.

SIBOV, S.T.; GASPAR, M.; SILVA, M.J. et al. Two genes control aluminum tolerance in maize: Genetic and molecular mapping analyses. **Genome**, Ottawa, v.42, p.475-482, 1999.

WALLACE, S.U.; ANDERSON, I.C. Aluminum toxicity and DNA synthesis in wheat roots. **Agronomy Journal**, Madison, v.76, p.5-8, 1984.

WENZL, P.; CHAVES, A.L.; PATIÑO, G.M. et al. Aluminum stress stimulates the accumulation of organic acids in root apices of brachiaria species. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Dresden, v.165, p.582-588, 2002.

WENZL, P.; PATIÑO, G.M.; CHAVES, A.L. et al. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**, Lancaster, v.125, p.1473-1484, 2001.

WIGHT, C.P.; KIBITE, S.; TINKER, N.A. et al. Identification of molecular markers for aluminium tolerance in diploid oat through comparative mapping and QTL analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.112, p.222-231, 2006.

ZHANG, W.; RYAN, P.R.; TYERMAN, S.D. Malate-permeable Channels and cation channels activated by aluminum in the apical cells of wheat roots. **Plant Physiology**, Lancaster, v.125, p.1459-1472, 2001.

ZHENG, S.J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat: I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. **Plant Physiology**, Lancaster, v.117, p.745-751, 1998.