Ciência Téc. Vitiv. 23 (1) 21-27.2008

AVALIAÇÃO DE PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA *in vitro* EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE POR ALUMÍNIO

EVALUATION OF ROOTSTOCK GRAPEVINE *in vitro* IN CONDITIONS OF STRESS PER ALUMINUM

S. L. Burkhardt[1], **F. Villa**[2], **A. Lima da Silva**[3] , **J. J. Comim**[3], **M. Pasqual**[2]

[1]Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.
[2]Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Caixa Postal 37, CEP.: 37200-000, Lavras, MG, Brasil, e-mail: fvilla2003@libero.it .
[3]Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

(Manuscrito recebido em 30.04.08. Aceite para publicação em 19.06.08)

RESUMO

O alumínio é o metal mais abundante e o terceiro elemento mais comum na crosta terrestre, compreendendo aproximadamente 7% da sua massa total, e em solos ácidos, sua toxidez é o fator limitante de maior importância para a produtividade das culturas no mundo. Neste sentido, este trabalho busca determinar um método de avaliação do comportamento de porta-enxertos de videira, Paulsen 1103 e Gravesac, em condições estressantes de alumínio *in vitro*. As plantas matrizes foram mantidas em casa de vegetação, em condições controladas contra patógenos, e submetidas a fertirrigação com solução nutritiva para videira. Para seleção dos explantes, desinfestação, introdução e manutenção *in vitro* foram utilizadas metodologias de cultura de tecidos para a videira. Após a desinfestação, os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura DSD1. As culturas *in vitro* foram transferidas para salas de crescimento e mantidas sob condições de temperatura de 25°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 40-45 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$. A sustentação dos explantes no meio líquido foi obtida por intermédio de discos de cortiça previamente preparados e esterilizados. Os experimentos foram conduzidos com pH da solução igual a 4,0 e concentrações de Al, adicionadas na forma de $AlCl_3$, variando de 0 a 1,375 mM. Após a autoclavagem do meio de cultivo, as doses de alumínio foram adicionadas ao meio de cultura em câmara de fluxo laminar e os valores de pH corrigidos para 4,0. Foram implantados dois experimentos. No primeiro, os explantes das duas variedades de porta-enxertos foram colocados diretamente no meio de cultura DSD1 líquido com diferentes concentrações de Al, onde ficaram por um período de 60 dias até a avaliação. No segundo experimento, os explantes foram introduzidos em mesmo meio, na ausência de alumínio. Após 30 dias em crescimento, as plantas *in vitro* foram selecionadas por tamanho e submetidas aos diversos tratamentos até a avaliação. O método para a avaliação dos efeitos fitotóxicos do alumínio sobre a cultura da videira em condições *in vitro* foi elaborado com base em estudos que tratam da toxidez por alumínio em solução nutritiva e da seleção de videiras *in vitro*. Avaliaram-se os efeitos dos tratamentos sobre o sistema radicular (número de raízes e massa seca), matéria fresca e seca total e matéria seca das folhas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado composto por seis vidros, contendo três plantas cada um, num total de sete tratamentos. Os porta-enxertos de videira Gravesac e Paulsen 1103, apresentam mecanismos de exclusão do alumínio via elevação do pH do meio de cultura. A variedade Gravesac apresentou respostas de variação de pH mais rápidas que a variedade Paulsen 1103. Ocorreu variabilidade nas respostas de crescimento de plantas *in vitro* em condições estressantes de H^+ e Al^{+3}. O desenvolvimento *in vitro* do porta-enxerto Paulsen 1103 foi superior ao do Gravesac para número de folhas, comprimento das raízes, área foliar, peso seco total.

ABSTRACT

The aluminum is the most abundant metal and the third more common element in the terrestrial crust, with approximately 7% of your total mass and in acid soils, your toxicity is the limiting factor of larger importance for the productivity of cultures in the world. In this sense, this work search to determine a method of evaluation of the behavior of rootstock grapevine 'Paulsen 1103' and 'Gravesac', in stress conditions of aluminum *in vitro*. The plants were maintained in a greenhouse, in controlled conditions against diseases, and submitted the irrigation with nutritious solution for grapevine. For selection of the explants, disinfestations, introduction and *in vitro* maintenance were used methodologies of tissue culture for the grapevine. After the disinfestations, the explants were inoculated in tubes containing 15 mL of culture medium DSD1. The cultures *in vitro* were transferred for growth rooms and maintained under temperature conditions of 25°C, photoperiod of 16 hours and luminous intensity of 40-45 $mol.m^{-2}.s^{-1}$. The sustentation of the explants in the liquid culture medium was previously obtained through cork disks prepared and sterilized. The experiments were maintained with pH of the solution same to 4.0 and concentrations of Al, added in the $AlCl^3$ form, varying from 0 to 1.375 mM. After the sterilization of the culture medium, the concentrations of aluminum were added to the culture medium in a laminar camera and the pH values corrected for 4.0. Two experiments were implanted. In the first, the explants of the two varieties of grapevine rootstock were placed directly in the liquid culture medium DSD1 with different concentrations of Al, where were maintained per 60 days until the evaluation. In the second experiment, the explants were introduced in the same culture medium, in the absence of aluminum. After 30 days in growth, the plants *in vitro* were selected by size and submitted to the several treatments until the evaluation. The method for the evaluation of aluminum fitotoxicity effects on the grapevine culture *in vitro* was elaborated with base in studies about the toxicity for aluminum in nutrition solution and the selection *in vitro* of grapevine. The effects of the treatments were evaluated on the radicular system (number of roots and sec mass), fresh mass and sec mass of leaves. The experimental delineate used was randomized composed by six glasses, containing three plants each one, in a total of seven treatments. The rootstock grapevine 'Gravesac' and 'Paulsen 1103', present mechanisms of aluminum exclusion through elevation of pH in the culture medium. The cv. 'Gravesac' presented answers variation of faster pH than 'Paulsen 1103'. Its happened variability in the answers growth of plants *in vitro* in stress conditions of H^+ and Al^{+3}. The development *in vitro* of rootstock grapevine Paulsen 1103 was superior to Gravesac for number of leaves, length of roots, foliar area and total dry weight.

Palavras-chave: cultura de tecidos, toxicidade, *Vitis* spp.

Key-words:tissue culture, toxicity, *Vitis* spp.

INTRODUÇÃO

A vitivinicultura brasileira é uma atividade consolidada e de grande importância sócio-econômica para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Rosier e Losso, 1997). Nestes dois Estados da Região Sul a videira está implantada em condições de solos heterogêneos e predominantemente ácidos, com pH em torno de 5,0 (Desplobins, 2001).

O alumínio é o metal mais abundante e o terceiro elemento mais comum na crosta terrestre (Kochian, 1995), compreendendo aproximadamente 7% da sua massa total (Delhaize e Ryan, 1995), e em solos ácidos, sua toxidez é o fator limitante de maior importância para a produtividade das culturas no mundo (Fráguas, 1999). O sintoma mais expressivo e típico da toxicidez por alumínio, indicador do estresse, ocorre na raiz que é o principal órgão afetado e tem o seu crescimento inibido (Comin et al., 1999a).

Na viticultura catarinense verificou-se, a partir de 1985, uma acentuada queda de produtividade dos vinhedos e uma redução da área plantada, o que representava cerca de 30% da área total (Losso, 1994). Entre várias causas, estavam fatores nutricionais relacionados às características dos solos (Rosier e Losso, 1997).

A partir de 1998/99, ocorreu uma reversão do quadro pessimista que dominava o setor vitivinícola catarinense, com a expansão da área plantada. Para o plantio e a renovação dos vinhedos catarinenses existe uma grande demanda de mudas, principalmente de qualidade genética e sanitária comprovada. Entretanto, as variedades de porta-enxertos recomendadas para o Brasil foram selecionadas principalmente na Europa, para condições de solos calcários, bem diferentes das encontradas nas regiões de produção do Sul do Brasil.

Pelo exposto, o emprego de genótipos adaptados às condições de solo ácido conjuntamente com a adição de calcário e adubações racionais são as estratégias de maior potencial para a utilização racional dos solos com elevados teores de alumínio trocável (Kochian, 1995).

No entanto, ainda são incipientes os resultados de trabalhos sobre os efeitos prejudiciais do alumínio em solos ácidos. Verifica-se na literatura, a busca do estabelecimento de metodologias viáveis para analisar o comportamento de porta-enxertos de videira em condições de estresse por alumínio a campo (Alvarenga, 2001; Fráguas, 1999) e em solução nutritiva (Tecchio et al., 2005; Comin et al., 1999b).

Neste sentido, este trabalho busca determinar um método de avaliação do comportamento de porta-enxertos de videira, Paulsen 1103 e Gravesac, em condições estressantes de alumínio *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal - Os porta-enxertos Paulsen 1103 e Gravesac utilizados na pesquisa foram introduzidos no Brasil pela Estação Experimental de Videira (EPAGRI), Videira (SC) e Fazenda Experimental de Caldas (EPAMIG), Caldas (MG), respectivamente.

Cultura *in vitro* - As plantas matrizes foram mantidas em casa de vegetação, em condições controladas contra patógenos, e submetidas a fertirrigação com solução nutritiva para videira (Pouget, 1984). Para seleção dos explantes, desinfestação, introdução e manutenção *in vitro* foram utilizadas metodologias de cultura de tecidos para a videira (Galzy, 1985; Lima da Silva, 1995). Após a desinfestação, os explantes foram inoculados em tubos de ensaio Pyrex® (20x200mm) contendo 15 mL de meio de cultura DSD1 (Lima da Silva e Doazan, 1995).
As culturas *in vitro* foram transferidas para salas de crescimento e mantidas sob condições de temperatura de 25°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 40-45 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$. A sustentação dos explantes no meio líquido foi obtida por intermédio de segmentos de cortiça (discos) previamente preparados e esterilizados, conforme apresentação na Figura 1.

Fig. 1 - Explantes de videira *in vitro* em meio líquido com uso de filtros de cortiça. UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.
Explants of grapevine in vitro in culture medium with use of cork filters. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

Concentrações de alumínio - Os experimentos foram conduzidos com pH da solução igual a 4,0 e concentrações de Al, adicionadas na forma de $AlCl_3$, variando de 0,0 a 1,375 mM. Para a definição das concentrações considerou-se que a concentração total de alumínio encontrada naturalmente nos solos ácidos varia de 0-0,350mM, podendo em casos especiais, atingir 1,000 mM (Adams & Moore, 1983). A correção das "concentrações" termodinâmicas denominadas de atividades, que levam em consideração o pH, a força iônica, os possíveis quelantes, a precipitação de solutos, a proteção de íons da solução, dentre outros, foi realizada com auxílio do programa GEOCHEM-PC v.2.0 (Parker et al., 1987), ficando, então os tratamentos (concentrações de alumínio), conforme demonstrado na Tabela 1.

Na preparação dos tratamentos tomou-se o cuidado de realizar a autoclavagem das soluções (meio de cultura DSD1 + respectivas concentrações de alumínio), em frascos diferentes para prevenir reações

QUADRO I

Concentração total de alumínio (Al), concentração de Al^{+3} livre e atividade do Al^{+3} na solução DSD1 a pH = 4,0. UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

Total concentration of aluminum (Al), concentration of free Al^{+3} and Al^{+3} activity in the solution DSD1 with pH = 4.0. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

Concentração		Atividade	Força iônica
Al Total mM	**Al^{+3} livre mM**	**Al^{+3} mM**	**mM**
0,000	0,000	0,000	2.094E-02
0,250	0,056	0,015	2.160E-02
0,425	0,109	0,030	2.210E-02
0,650	0,162	0,044	2.258E-02
1,000	0,229	0,061	2.312E-02
1,200	0,283	0,074	2.353E-02
1,375	0,345	0,090	2.398E-02

entre o alumínio e os componentes orgânicos da solução (sacarose e vitaminas) em altas temperaturas e pressão (Comin, 1999, comunicação pessoal). Assim, após a autoclavagem (Duncan et al., 1995), as doses de alumínio foram adicionadas ao meio de cultura em câmara de fluxo laminar e os valores de pH corrigidos para 4,0.

Aplicação dos tratamentos - Foram implantados dois experimentos. No primeiro, os explantes das duas variedades de porta-enxertos foram colocados diretamente no meio de cultura DSD1 líquido com diferentes concentrações de Al, onde ficaram por um período de 60 dias até a avaliação. No segundo experimento, os explantes foram introduzidos em mesmo meio, na ausência de alumínio. Após 30 dias em crescimento, as plantas *in vitro* foram selecionadas por tamanho e submetidas aos diversos tratamentos até a avaliação.

Avaliação dos tratamentos - O método para a avaliação dos efeitos fitotóxicos do alumínio sobre a cultura da videira em condições *in vitro*, foi elaborado com base em estudos que tratam da toxidez por alumínio em solução nutritiva (Comin et al., 1999b; Dantas et al., 2001) e da seleção de videiras *in vitro* (Singh et al., 2000). Avaliaram-se os efeitos dos tratamentos sobre o sistema radicular (número de raízes e massa seca), matéria fresca e seca total e matéria seca das folhas. O material fresco foi acondicionado em envelopes e submetido à temperatura de 60°C por um período de 96 h quando se determinou a massa seca.

Avaliação do pH e atividades de alumínio - Para a avaliação do pH nos diferentes tratamentos foram retiradas alíquotas de 0,5 mL (em ambiente de câmara de fluxo laminar) de cada frasco referente aos tratamentos, perfazendo uma amostra composta com volume final de 3,0 mL. O pH foi medido em intervalo médio de cinco dias, ao longo de trinta dias. Com o auxílio do programa GEOCHEM-PC versão 2.0 foram geradas curvas de atividades de Al^{+3}, corrigidas pelos valores de pH determinados em cada tratamento durante o período de avaliação.

Análise estatística - O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado composto por seis vidros, contendo três plantas cada um, num total de sete tratamentos, conforme a Tabela 1. As análises estatísticas foram realizadas com base nas concentrações de alumínio, de forma a se obter modelos de regressões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação de explantes dos porta-enxertos de videira introduzidas *in vitro* em meio com alumínio - A análise da produção de massa fresca e seca total demonstraram que a variedade Paulsen 1103 apresenta maior susceptibilidade, sofrendo uma redução de crescimento a partir de 0,650 mM Al e se aproximando de valores próximos de zero em concentrações superiores a 1,200 mM (Figuras 2 e 3). Para a massa seca total do porta-enxerto Paulsen 1103 (Figura 3), os valores foram extremamente reduzidos a partir da concentração 1,00 mM de Al e não foram apresentados.

Por outro lado, para a variedade Gravesac observou-se que, de modo geral, as concentrações de alumínio não causaram efeitos para massa fresca total (Figura 2) ou leve tendência de redução gradativa da massa seca total em função do aumento dos teores de alumínio em solução (Figura 3).

Este comportamento dos explantes dos porta-enxertos *in vitro* pode estar relacionado principalmente ao baixo valor de pH (4,0) e a concentração de alumínio no meio de cultura ou a características dos explantes, tais como a origem, o tipo, a idade dos tecidos utilizados (Fournioux e Bessis, 1993).

A utilização de explantes de videira *in vitro* diretamente em meio de cultura líquido, em condições de estresse por pH e alumínio, culminou em desenvolvimento variável e reduzido crescimento radicular e

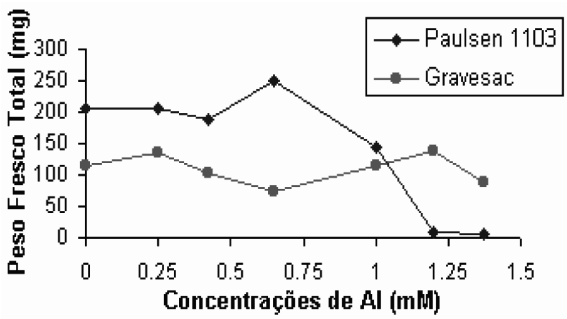

Fig. 2 - Relação da massa fresca total (mg), em função das concentrações de Al (mM). Var. Paulsen 1103 e Gravesac. UFSC, Fpolis/SC.
Relationship of the total fresh mass (mg), in function of Al's concentrations (mM). Var. Paulsen 1103 and Gravesac. UFSC, Fpolis/SC, Brazil.

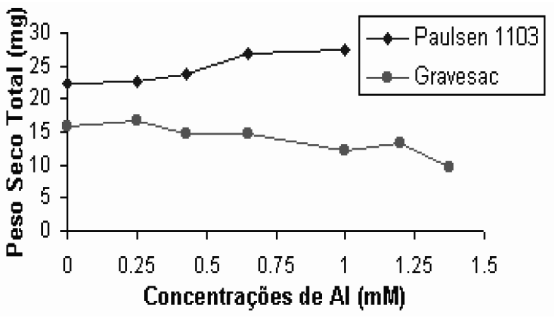

Fig. 3 - Relação da massa seca total (mg), em função das concentrações de Al (mM). Var. Paulsen 1103 e Gravesac. UFSC, Fpolis/SC.
Relationship of the mass total drought (mg), in function of Al's concentrations (mM). Var. Paulsen 1103 and Gravesac. UFSC, Fpolis/SC, Brazil.

aéreo. Quando os explantes foram submetidos ao estresse ainda não apresentavam sistema radicular e aéreo, necessitando de tempo para a formação de raízes e brotação das gemas. A presença de H^+ e Al^{+3} no meio de cultura pode ter promovido reações de toxidez nas células do câmbio (Jones et al., 1998), impedindo a formação e o desenvolvimento de raízes e, consequentemente, não permitindo a brotação e desenvolvimento da gema axilar responsável pela formação de nova planta.

Outro fator de importância é que os explantes de videira *in vitro* apresentam a formação e desenvolvimento das gemas axilares de forma escalonada, de forma que as gemas basais apresentam idade e estruturas com diferenciação superiores às gemas apicais (Fournioux e Bessis, 1993).

Tais demonstram que o uso direto dos explantes em condições de estresse por H^+ e Al^{+3} não é a opção mais adequada para avaliar o efeito da toxidez do alumínio. Em face desses resultados, foi implantado novo experimento utilizando plantas com trinta dias de idade, selecionadas pelo tamanho e na ausência de alumínio, em cultura *in vitro* com meio líquido e pH de 6,4.

Avaliação de plantas dos porta-enxertos de videira introduzidas *in vitro* em meio com alumínio - As plantas submetidas aos diferentes tratamentos apresentavam tanto a parte aérea quanto o sistema radicular formado, de modo que os diferentes tratamentos não influenciaram no número de raízes primárias. Nota-se que o número de raízes secundárias da variedade Gravesac foi influenciado pelas diferentes concentrações de alumínio (Figuras 4 e 5).

Nas concentrações 0,250 e 0,425 mM Al ocorreu redução do número de raízes secundárias e o aparecimento de efeitos fitotóxicos nas raízes primárias, a ponto de impedir o crescimento das ramificações. Por outro lado, nas concentrações de 0.650 a 1,200 mM Al verificou-se aumento no número

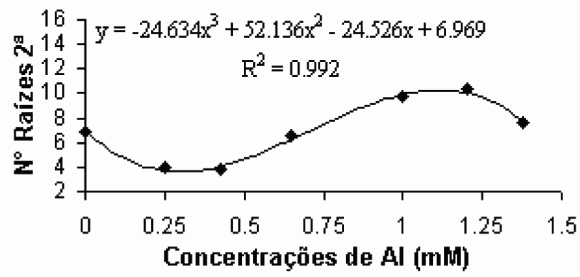

Fig. 4 - Relação de N° de Raízes Secundárias em função das concentrações de Al (mM) na var. Gravesac *in vitro*. UFSC, Fpolis/SC.
Relationship of secondary roots number in function of Al's concentrations (mM) in the var. Gravesac in vitro. UFSC, Fpolis/SC, Brazil.

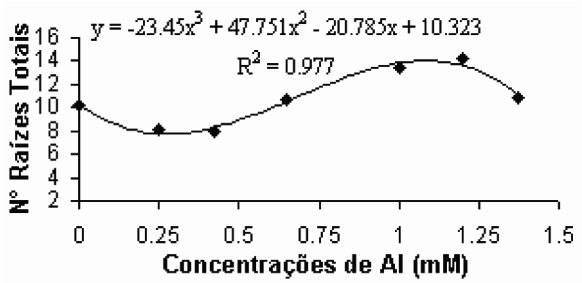

Fig. 5 - Relação de N° de Raízes Totais em função das concentrações de Al (mM) na var. Gravesac *in vitro*. UFSC - Fpolis/SC.
Relationship of total roots number in function of Al's concentrations (mM) in the var. Gravesac in vitro. UFSC, Fpolis/SC, Brazil.

de raízes secundárias. Também se observou a presença de pontuações com tonalidades marrons e/ou negras, indicando sinais de emissão de primórdios radiculares, que devido aos efeitos da toxidez do alumínio no meio de cultura, não originaram novas raízes.

Na variedade Paulsen 1103 não foram observadas diferenças significativas com relação ao número de raízes secundárias. No entanto, para o número de

raízes totais o efeito do Al foi semelhante àquele sobre a variedade Gravesac. Observou-se diminuição do número de raízes totais nas concentrações 0,250 e 0,425 mM Al, aumento nas concentrações de 0,650 a 1,200 mM Al e novamente redução com 1,375 mM Al. Comin et al. (1999b) em estudo conduzido em solução nutritiva encontraram reduções no número total de raízes para a variedade Gravesac de 47; 64; 75 e 72% nas concentrações de 200, 400, 600 e 800 µM Al, respectivamente, e de 32; 67; 73 e 66% nas mesmas concentrações para a variedade Paulsen 1103.

Verifica-se na literatura que a toxidez por alumínio pode provocar o aumento do número de raízes secundárias (Dantas et al., 2001) como verificado nas concentrações entre 0,650 e 1,200 mM Al.

Provavelmente o efeito fitotóxico do alumínio promova a destruição das células meristemáticas da raiz alterando a produção de hormônios que controlam o crescimento da parte apical (Foy et al., 1978), quebrando a dominância da raiz principal e induzindo a ramificação de raízes secundárias.

Quanto à massa seca radicular, não se verificou efeitos das diferentes concentrações de alumínio em ambas as variedades. Estes resultados estão de acordo com aqueles de Comin et al. (1999b), em trabalho realizado com as duas variedades de porta-enxerto, e de Souza et al. (2000).

Para a massa seca das folhas foram identificados comportamentos distintos para as duas variedades. A variedade Gravesac (Figura 6) não sofreu efeitos nas concentrações entre 0,250 e 0,425 mM Al e apresen-

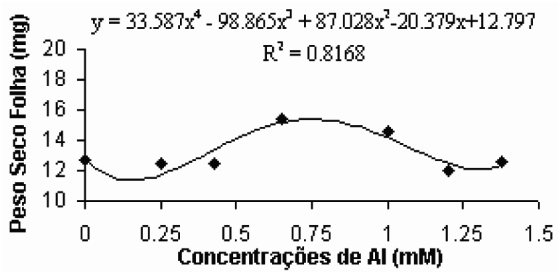

Fig. 6 - Relação do peso seco das folhas (mg) em função das concentrações de Al (mM) na var. Gravesac *in vitro*. UFSC, Fpolis/SC.
Relationship of the dry weight of leaves (mg) in function of Al's concentrations (mM) in var. Gravesac in vitro. UFSC, FPOLIS/SC, Brazil.

tou aumento na produção da massa seca nas concentrações de alumínio entre 0,650 mM e 1,000 mM. Nas concentrações superiores ocorreu decréscimo. Por outro lado, a variedade Paulsen 1103 (Figura 7) apresentou acréscimo na massa das folhas na concentração de alumínio de 0,250 mM, e em seguida redução na massa seca das folhas nas demais concentrações testadas.

Comin et al. (1999b) verificaram redução do peso seco da parte aérea das variedades Paulsen 1103 e Gravesac em função do aumento das concentrações

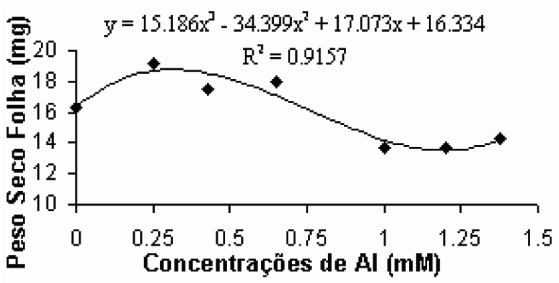

Fig. 7 - Relação do peso seco das folhas (mg) em função das concentrações de Al (mM) na var. Paulsen 1103 *in vitro*. UFSC, Fpolis/SC.
Relationship of the dry weight of leaves (mg) in function of Al's concentrations (mM) in var. Paulsen 1103 in vitro. UFSC, Fpolis/SC, Brazil

de alumínio em solução. Entretanto, Fráguas (1999), avaliando diferentes variedades de porta-enxertos de videira e, Dantas et al. (2001) trabalhando com porta-enxertos de macieira, verificaram que a biomassa da parte aérea das variedades apresentou tanto aumentos quantos decréscimos em função das concentrações de alumínio.

Quanto às divergências de respostas verificadas por Fráguas (1999) e Dantas et al. (2001), pode-se atribuí-las a vários fatores, como questões de tolerância de genótipos, metodologias e processos de avaliação, concentrações e/ou atividades de alumínio, entre outros.

Atividades de alumínio em meio de cultura *in vitro* para Gravesac e Paulsen 1103 - Com base nos valores de pH observados nas soluções do meio de cultura contendo as plantas *in vitro* monitoradas durante todo o período experimental, foram realizadas correções das atividades correspondentes de Al^{+3} (Alva et al., 1986). Esta correção de atividades levou em consideração, exclusivamente, as alterações de pH observadas.

Verifica-se na Figura 8 o comportamento das atividades de Al^{+3} em todos os tratamentos com alumínio até a concentração de 1,00 mM para a variedade Gravesac *in vitro*. De maneira geral, observou-se para todas as concentrações que as atividades apresentaram dois períodos característicos:

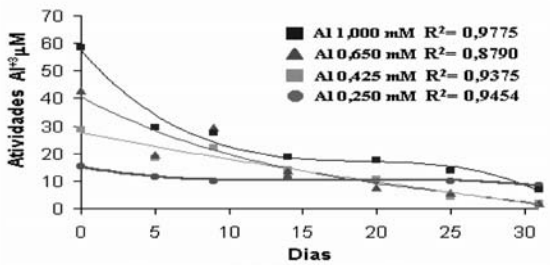

Fig 8 - Atividades de Al+3 estimadas em cultura in vitro da var. Gravesac nas concentrações de alumínio entre 0,250mM e 1,00mM. UFSC, Florianópolis, SC.
Activities of Al^{+3} dear in culture in vitro of var. Gravesac in the aluminum concentrations between 0,250mM and 1,00mM. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

no primeiro (0-15 dias), ocorreu uma queda acentuada nas atividades de Al^{+3}, e no segundo (15-30 dias), as atividades apresentam reduções lentas e gradativas. A correção da atividade pelo pH, apesar de não ser exata, tende a ser pouco influenciada pelos outros fatores envolvidos (absorção de água e nutrientes pelas plantas).

A variedade Gravesac *in vitro* apresentou um alto potencial de alteração do pH no meio de cultura. Esta modificação reflete significativamente no nível de atividade de Al^{+3} e nos seus efeitos de toxidez nos tecidos vegetais. Este comportamento pode ser de origem genética e/ou fisiológica, determinando características de tolerância ou resistência ao efeito tóxico do íon Al^{+3}.

Para diversos autores, entre eles Li et al. (2000), o comportamento de tolerância ao alumínio está relacionado com a liberação de ácidos orgânicos. Para outros autores, a tolerância se manifesta através de mecanismos múltiplos com a exsudação de fosfato e ácidos orgânicos, simultaneamente (Pellet et al., 1996). No caso específico da variedade de porta-enxerto de videira Gravesac, a tolerância parece estar relacionada com a elevação do pH do meio, como verificado por Kochian et al. (1998) em um mutante de *Arabidopsis*.

Outra observação importante é que o porta-enxerto Gravesac foi selecionado na França para solos ácidos por Pouget e Waltenwalter (1986). Possivelmente devido a este processo, a variedade apresenta a capacidade de elevação do pH do meio para o seu crescimento e desenvolvimento, podendo assim reduzir os efeitos prejudiciais causados pelos íons H^+ e Al^{+3}, uma vez que os baixos valores de pH são requisitos necessários para que o Al possa apresentar efeitos tóxicos.

Levando-se em conta o potencial de alteração de pH no meio de cultura que a variedade apresentou, pode-se supor que o pH da solução ao nível do apoplasto pode ter atingido níveis mais elevados que aqueles verificados nos frascos, diminuindo desta forma ainda mais as atividades de Al^{+3} nas regiões radiculares onde este elemento exerce o seu efeito deletério.

Para as concentrações de Al entre 1,200 e 1,375 mM, as alterações dos valores pH foram pouco expressivas. Pode-se observar, através das curvas estimadas (Figura 9) que as atividades de alumínio foram pouco afetadas, apresentando variação mínima para o período avaliado. Este comportamento demonstra a incapacidade das plantas *in vitro* de alterar o pH da solução.

Outra hipótese para esse resultado seria que em concentrações superiores a 1,000 mM os efeitos deletérios do Al são expressivos a ponto de causar a paralisação do metabolismo das células das raízes impedindo a atuação dos seus mecanismos protetores, tais como a exsudação de compostos orgânicos e

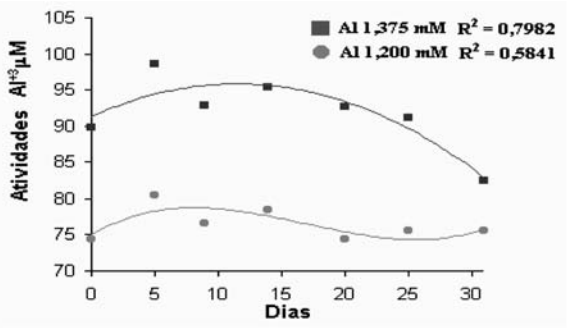

Fig. 9 - *Atividades de Al^{+3} estimadas* in vitro *da Gravesac nas concentrações de alumínio de 1,200 mM e 1,375 mM. UFSC, Florianópolis, SC.*
Activities of Al^{+3} dear in culture in vitro of var. Gravesac in the aluminum concentrations of 1,200mM and 1,375mM. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

inorgânicos quelantes, elevação do pH e outros (Kochian et al., 2004).

Com relação à variedade Paulsen 1103, os valores de pH foram diferentes daqueles observados para o Gravesac. Enquanto o último atuou na elevação do pH das soluções do meio *in vitro*, Paulsen 1103 demonstrou, de maneira geral, diminuição dos valores de pH durante o período inicial (0-15 dias). Em seguida, observou-se alterações nos valores de pH que permitem a redução das atividades de alumínio para as concentrações inferiores a 0,650 mM (Figura 10).

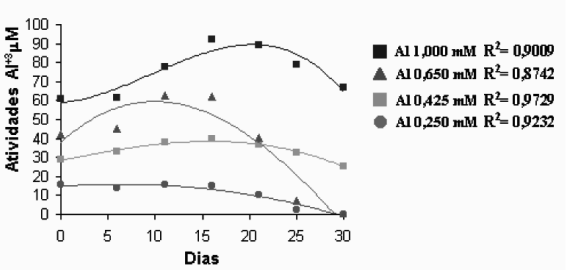

Fig. 10 - *Atividades de Al^{+3} estimadas em cultura in vitro da var. Paulsen 1103 nas concentrações de alumínio entre 0,250mM e 1,00mM. UFSC, Fpolis/SC.*
Activities of Al^{+3} dear in culture in vitro of var. Paulsen 1103 in the aluminum concentrations between 0,250mM and 1,00mM. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

Nas concentrações mais elevadas (1,200 e 1,375 mM Al) observou para a variedade Paulsen 1103 uma queda acentuada no pH com aumento expressivo das atividades das soluções até o 20° dia (Figura 11). Em seguida, entre 20 e 30 dias de experimento, notou-se alteração desse padrão. No entanto, os valores de atividade do Al^{3+} se mantiveram superiores àqueles observados no início do período experimental.

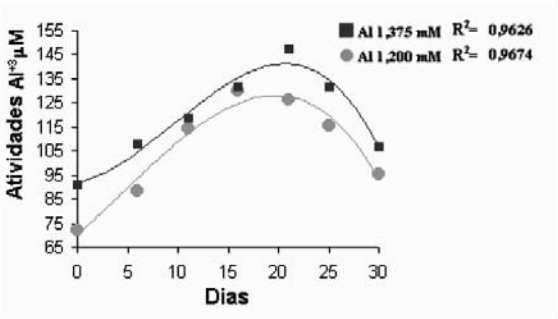

Fig. 11 - Atividades de Al^{+3} estimadas em cultura *in vitro* da var. Paulsen 1103 nas concentrações de alumínio de 1,200mM e 1,375mM. UFSC, Fpolis/SC.

Activities of Al^{+3} dear in culture in vitro of var. Paulsen 1103 in the aluminum concentrations of 1,200mM and 1,375mM. UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams F., Moore B.L., 1983. Chemical factors affecting root growth in subsoil horizons of coastal plain soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.,* **47**, 1, 99-102.

Alva A.K., Edwards D.G., Asher C.J., Blaney F.P.C., 1986. Relationships between root lenght of soybean and calculated activities of aluminum monomers im nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **50**, 959-962.

Alvarenga A.A., 2001. *Avaliação de cultivares, porta-enxertos e produtoras de videira (Vitis spp.) em condições de solos ácidos e alumínio.* 2001. 153p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Comin J.J., Barloy J., Bourrié G., Trollard F., 1999a. Differential toxicity of monomeric and polymeric aluminium in solution culture for corn. *Europ. J. Agron.* **11**, 115-122.

Comin J.J., Franzon R.C., Burkhardt S.L., Silva A.L., 1999b. Toxidez do Al em dois porta-enxertos de videira em solução nutritiva. *In: XXIV Reunião de fertilidade do solo e nutrição de plantas.* Resumo, p. 141.

Dantas A.C.M., Fortes G.R.L., Silva J.B., Nezi A.N., Rodrigues A.C., 2001. Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. *Pesq. Agropec. Bras*., **36**, 4, 615-623.

Delhaize E., Ryan P., 1995. Update on environmental stress: aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol*., **107**, 2, 315-321.

Desploblins G., 2001. *Resistence ou reactivité des producteurs face aux incitations des dispositifs institutionnels: les viticultures riograndense et catarinense du sul-bresilien***.** Montpellier. 157p. Dissertação de Mestrado.

Duncan R.R., Waskon R.M., Nabors M.W., 1995. *In vitro* screening and field evaluation of tissue-culture-regenerated sorghum (*Sorghum bicolor*(L.) Moench) for soil stress tolerance. *Euphytica*, **85**, 373-380.

Fournioux J.C., Bessis R., 1993. Use of carbon dioxide enrichment to obtain adult morphology of grapevine *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, **33**, 51-57.

Foy C.D., Chaney R.L.; White M.C., 1978. The Phisiology of Metal Toxicity in Plants. *Ann. Rer. Plant Physiol.,* **29**, 511-566.

Fráguas J.C., 1999. Tolerância de porta-enxertos de videira ao alumínio do solo. *Pesq. Agropec. Bras.* **34**, 7, 1193-1200.

Galzy R., 1985. Les possibilités de conservation *in vitro* d'une colletion de clones de vignes. *Bull. O.I.V.*, **650**, 375-390.

Jones D.L., Kochian J.V., Gilroy S., 1998. Aluminum induces a decrease in cytosolic calcium concentration in BY-2 tobacco cell cultures. *Plant Physiol.*, **116**, 81-89.

Kochian L.V., 1995. Cellular mechanisms of aluminum resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **46**, 237-260.

Kochian L.V., Hoekenga O.A., Piñeros M.A., 2004. How do crop plants tolerate acid Soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **55**, 459-493.

Kochian L.V., Degenhardt J., Larsen P.B., Howell S.H., 1998. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant *alr*-104 is caused by na aluminum-induced increase in rhizosphere pH. *Plant Physiol.*, **117**, 19-27.

Li X.F., Ma J.F., Matsumoto H., 2000. Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differents between rye and wheat. *Plant Physiol.,* **123**, 4, 1537-1543.

Lima-Da-Silva A., 1995. *Mutagenèse in vitro de porte-greffes de la Vigne: méthodologie d'irradiation, d'isolement et caractérisation de mutants.* Bordeaux. Université de Bordeaux II. 135p. Tese de Doutorado.

Lima-Da-Silva A., Doazan J.P., 1995. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. *J. Int. Sci. Vigne Vin,* **29**, 1-9.

Losso M., 1994. *A viticultura catarinense: diagnósticos, conclusões e sugestões.* Florianópolis, EPAGRI.

Parker D.R., Zelazny L.W., Kinraide, T.B., 1987. Improvements to the program Geochem. *Soil Sci. Soc. Am. J.,* v. **51**, p. 488-491.

Pellet D.M., Papernik L.A., Kochian L.V., 1996. Multiple aluminum-resistence mechanisms in wheat. *Plant Physiol.*, v. **112**, p. 591-597.

Pouget R., OTTENWAELTER M., 1986. Recherches de porte-greffes adaptés aux sols acides: une nouvelle variété, le Gravesac. *VigneVini,* v.**13**, n.12, p.134-137.

Rosier J.P., Losso M., 1997. *Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: Vitivinicultura.* Florianópolis, EPAGRI, 41p. (Boletim Técnico, n. 83).

Singh S.K., Sharma H.C., Goswami A.M., Datta S.P., Singh S.P., 2000. *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum***,** v. **43**, n. 2, p. 283-286.

Souza J.R.P., Guimarães M.F., Muller M.M.L., Santos C.H., 2000. Morphological alterations of corn (*Zea mays* L.) plants in response to aluminum toxicity in the soil. *Bra. Arch. of Biol. and Tech.,* v.**43**, n.4, p.415-420.

Tecchio M.A., Pires E.J.P., Filho E.G., Brizola R.M.O., Vieira C.R.Y., Terra M.M., 2005. Avaliação de variáveis fisiológicas em porta-enxertos de videira cultivados em solução nutritiva com a adição de alumínio. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.**29**, n.2, p.274-283.