

# Toxicidade do alumínio e o potencial dos fungos ectomicorrízicos na biorremediação dos solos ácidos

Aluminum toxicity and the potential of ectomycorrhizal fungi in the bioremediation of acid soils

Amanda A Bertolazi<sup>1,\*</sup>, Josimara B Venancio<sup>2</sup>, Frederico F Figueira<sup>3</sup>, Sávio B Souza<sup>4</sup>, Júlia G Barcelos<sup>5</sup>

<sup>1,2</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF). Av. Alberto Lamego 2000 28013-600, Campos dos Goytacazes, RJ, <sup>3,4,5</sup> Universidade Vila Velha (UVV). Rua Comissário José Dantas de Melo 21, Boa Vista 29102-770 Vila Velha, ES.

\*Autor para correspondência: [amanda.nany@gmail.com](mailto:amanda.nany@gmail.com)

**Resumo** Desde a revolução industrial, impactos antropogênicos têm promovido uma grande liberação de metais no ambiente, e o solo, sendo a parte básica e mais essencial do sistema ecológico, está sendo altamente contaminado. A disposição de resíduos urbanos e industriais, emissões de automóveis, atividades mineradoras e aplicação de fertilizantes e pesticidas na agricultura, têm contribuído para uma acumulação contínua de metais no solo. Embora alguns metais sejam essenciais para plantas e animais, a maioria é tóxica em elevadas concentrações, e a preocupação com a extensão e gravidade da contaminação do solo que eles causam está crescendo. Em solos ácidos ( $\text{pH} < 5.5$ ) a toxicidade do metal alumínio (Al) é o fator primário de limitação na produtividade das culturas. Este elemento na sua forma trivalente ( $\text{Al}^{3+}$ ) parece ser a mais importante espécie de Al rizotóxico, e à medida que o pH do solo cai este cátion é liberado e solubilizado. O primeiro sintoma visível da toxicidade do alumínio é a inibição do crescimento radicular, porém, este metal pode entrar fácil e rapidamente no apoplasto reagindo com a parede e a membrana celular alterando as suas propriedades e destruindo suas funções fisiológicas e biológicas, causando distúrbios enzimáticos e distúrbios na síntese de DNA, exercendo posteriores efeitos tóxicos nas plantas. Uma alternativa para o crescimento das plantas em solos contaminados com metais tóxicos como o Al é a utilização de fungos micorrízicos. Estas associações de fungos com raízes de plantas consistem em uma simbiose mutualística, em que o fungo é beneficiado com carboidratos provenientes de fotossíntese e a planta beneficia-se com água e nutrientes absorvidos pelas hifas fúngicas, além da proteção fornecida pelas estruturas miceliais. Tal proteção pode oferecer resistência a patógenos do solo, a estresses abióticos como seca, ou ao acúmulo de elementos tóxicos como os metais. A efetividade de uma diversidade de associações entre fungos e plantas, em relação ao crescimento destas em substratos

contendo metais, foi testada e comprovada para vários metais, sendo que esta remediação está relacionada a uma série de mecanismos extra e intracelulares, dos quais os fungos dispõem. Nesta revisão são descritas as respostas dos fungos ectomicorrízicos a toxicidade de metais com destaque para o alumínio.

**Palavras-chaves:** micorriza, tolerância, metal, biorremediação e mecanismos.

**Abstract** Since the industrial revolution, anthropogenic impacts have promoted a large release of metals in the environment, and the soil as the basic and most essential part of the ecosystem, is being highly contaminated. The disposal of industrial and urban residues, automobile emissions, mining activities and application of fertilizers and pesticides in agriculture, has contributed to a continuous metal accumulation in the soil. Although some metals are essential to plants and animals, most of them are toxic in high concentrations and the preoccupation around the extension and gravity of the soils contamination by metals is growing. In acid soils ( $\text{pH} < 5.5$ ) aluminum (Al) toxicity is the primary limitation factor of crop productivity and basically plant growth. This element in its trivalent form ( $\text{Al}^{3+}$ ) appear to be the most important specie of rhizotoxic Al because as the soil pH decreases, this ion is released and solubilized in the soil solution, becoming available to plants. The first visible symptom of aluminum toxicity is the inhibition of radicular growth, however, this metal can easily and rapidly enter the apoplast reacting with the cell wall and plasmatic membrane modifying their properties and destroying their physiological and biological functions, causing enzymatic disorders and also disorders in the DNA synthesis, inducing posteriors toxic effects in the plants. An alternative to plant growth in soil contaminated with toxic

metals like aluminum is the use of mycorrhizal fungi. This fungi association with plant roots consists in a mutualistic symbiosis, in which the fungus acquire carbohydrates from the photosynthesis and the plant maximize their water and nutrients absorption by the fungal hyphae whilst being protected by its structures. Such protection can provide resistance to soil pathogens, abiotic stresses like drought stress and accumulation of toxic elements such as metals. The effectiveness of a diverse association between fungi and plants, related to plant growth in substrate containing metals were tested and proven to several metals, and this remediation is related to a series of extra and intracellular mechanisms, that fungi possess. This review describes the ectomycorrhizal fungi responses to metals toxicity, especially aluminum.

**Keywords:** mycorrhiza, tolerance, metal, bioremediation and mechanisms.

---

## Introdução

Solos ácidos se formam a partir de materiais parentais que são ácidos e possuem naturalmente, baixa quantidade de cátions básicos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$ ), ou então, são formados quando estes íons são lixiviados do solo, reduzindo seu pH e sua capacidade tampão (Samac e Tesfaye 2003). Uma estimativa de 30-40% dos solos aráveis do mundo tem o pH abaixo de 5,5, sendo classificados, então, como solos ácidos. A maioria destes solos é recoberta por florestas (66,3% ou 2.621 milhões de ha), enquanto 17,7% (699 milhões de ha) são recobertos por savana, pradaria e vegetação de estepe (Von Uexkull e Mutert 1995).

A toxicidade de metais nos solos minerais ácidos é um dos principais fatores de limitação para o crescimento de plantas (Yang *et al.* 2009). A contaminação por íons metálicos no ambiente pode originar-se de processos naturais, através da decomposição de rochas metalíferas, ou de atividades industriais e agrícolas (Bellion *et al.* 2006). Estas têm sido cogitadas como a principal razão do aumento crescente da concentração de metais no solo, e o seu impacto nos ecossistemas tem sido bastante discutido devido à possibilidade de contaminação das cadeias alimentares animal e humana (Bisinoti *et al.* 2004).

Atividades humanas como mineração, operações de fundição, produção de energia e combustível, agricultura intensiva e disposição de efluentes domésticos contribuem significativamente com a contaminação de metais no ambiente (Nouri *et al.* 2009). Estes elementos tóxicos são considerados poluentes do solo devido a sua ampla ocorrência e seu efeito tóxico agudo e crônico nas plantas cultivadas em solos contaminados, podendo ser altamente reativos e bio-acumulativos para alguns organismos, sendo impossível de serem eliminados (Nagajyoti *et al.* 2010).

O acúmulo de metais no solo influencia as propriedades

do solo e afeta adversamente o estabelecimento e crescimento das plantas (Mishra e Dubey 2006), além de exercer efeitos adversos sobre a comunidade de microrganismos ali presente, interferindo nas funções do ecossistema, com consequências ao meio ambiente e a saúde pública (McGrath *et al.* 1995). O nível de toxicidade em uma planta ou microrganismo depende, geralmente, da concentração dos metais ou do seu papel nos processos bioquímicos (Hall 2002). São diversos os efeitos tóxicos dos metais como: alteração na permeabilidade da membrana plasmática, redução do conteúdo de água, alteração na produção de pigmentos, mudanças na funcionalidade das membranas induzindo a peroxidação dos lipídeos, produção de radicais livres que prejudicam a estrutura celular e causam danos na membrana, nas proteínas e no DNA e alterações na atividade mitocondrial levando a um estresse oxidativo e produção de ROS (Nagajyoti *et al.* 2010).

Dentre os metais contaminantes do solo, o alumínio (Al) é um dos minerais mais abundantes neste ecossistema, sendo também o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, podendo ser encontrado na forma de aluminossilicatos insolúveis ou óxidos (Kochian 1995). Sua toxicidade é considerada um dos maiores problemas em solos ácidos ( $\text{pH} < 5.5$ ), uma vez que provoca a limitação do crescimento das plantas (Delhaize e Ryan 1995). Isso ocorre, pois em baixo pH os  $\text{H}^+$  atuam sobre os minerais liberando  $\text{Al}^{3+}$  na forma de  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ , que é a espécie mais importante de Al rizotóxico. No entanto, à medida que o pH aumenta o  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  sofre sucessivas desprotonações formando  $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$  e  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ , chegando em pH neutro o alumínio se encontra na forma de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  mais conhecido como gipsita, sendo relativamente insolúvel. Quando o pH da solução aumenta para valores próximos a 7,4 o íon  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$  prevalece (Kinraide 1991).

De acordo com Alves (1997), estudando espécies florestais, o Al acumula-se preferencialmente no sistema radicular das plantas, retardando o seu crescimento e desenvolvimento, e só depois é translocado para a parte aérea. O Al interfere em uma ampla faixa de processos físicos e celulares e sua toxicidade pode resultar de interações complexas deste metal com sítios na parede celular, na membrana plasmática e no citosol (Kochian 2005).

A rapidez da inibição do crescimento radicular causada pelo Al indica que este metal promove rapidamente distúrbios na expansão e alongação celular da raiz, antes de inibir a divisão celular (Frantzios *et al.* 2001, Wallace e Anderson 1984). No entanto, exposições prolongadas levam o Al a interagir com o núcleo da célula radicular, resultando em inibição da divisão celular e do citoesqueleto (Silva *et al.* 2000). Desta forma, o Al promove a inibição da alongação da raiz, produzindo ápices radiculares inchados, e pouco ou nenhum desenvolvimento de pelos radiculares. Este dano extensivo da raiz resulta em um sistema radicular reduzido e danificado, promovendo uma limitada absorção de água e nutrientes minerais (Jones e Kochian 1995, Barceló e Poschenrieder 2002).

Os cátions de  $\text{Al}^{3+}$ , por serem ligantes metálicos com preferência por doadores de oxigênio, comumente ligam-se a

compostos inorgânicos como  $F^-$ ,  $PO_4^{3+}$ , e  $SO_4^{2-}$ , e compostos orgânicos como ácidos orgânicos, proteínas e lipídios (Delhaize e Ryan 1995), possuindo, assim, diversos potenciais sítios de ligação incluindo a parede celular, a superfície da membrana plasmática, o citoesqueleto e o núcleo (Panda *et al.* 2009).

Quando as plantas são expostas ao Al, o primeiro sítio de contato é a parede celular, podendo afetar sua estabilidade e extensibilidade (Kochian 2005, Ma *et al.* 2004). Diversos trabalhos têm demonstrado que a parede celular consiste no maior pool de acúmulo de Al (Delhaize *et al.* 1993, Taylor *et al.* 2000, Vardar e Unal 2007), sendo que relatos mostram a pectina como o maior sítio de ligação de Al (Horst 1995, Chang *et al.* 1999). Porém, outros trabalhos afirmam que este metal se liga em sua maioria nas hemiceluloses (Tabuchi e Matsumoto 2001, Yang *et al.* 2008). Yang *et al.* (2011 A) desenvolveram um procedimento de fracionamento otimizado, a fim de extrair os diferentes componentes da parede celular e observaram que o Al se liga em sua grande maioria nas hemiceluloses. Estes pesquisadores relataram também, a influência deste metal na redução da atividade da enzima xiloglucana endotransglucosilase/hidrolase, a qual acredita-se ter grande importância no controle da força e extensibilidade da parede celular.

A toxidez por alumínio também está relacionada a mudanças nas propriedades da membrana plasmática (Delhaize e Ryan 1995). Este metal provoca a despolarização da membrana tornando as plantas mais vulneráveis à sua toxidez (Sivaguru *et al.* 1999, Ahn *et al.* 2001). Neste processo o envolvimento das  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática é essencial, uma vez que a despolarização do potencial de membrana de plantas tratadas com alumínio, está associada a uma queda na atividade das  $H^+$ -ATPases e consequente dissipação do gradiente de  $H^+$  (Façanha e De Meis 1995, Ahn *et al.* 2001).

Posteriormente, foi demonstrado que o Al poderia também provocar um aumento na atividade das  $H^+$ -ATPases em uma variedade de milho tolerante ao Al (Façanha e Okorokova-Façanha 2002). Esta ativação das bombas de  $H^+$  induzida por Al foi comprovada não só em plantas, mas também em trigo e soja (Ahn *et al.* 2004, Shen *et al.* 2005) e em fungos como na levedura *Yarrowia lipolytica* (Lobão *et al.* 2007). Tal efeito foi correlacionado a uma maior secreção de ácidos orgânicos como o malato e o citrato, que dependeria da ativação do gradiente eletroquímico de  $H^+$  para potencializar seus próprios transportadores secundários, aumentando sua capacidade de transporte para o apoplasto onde podem atuar como quelantes de metais (Ahn *et al.* 2004, Shen *et al.* 2005).

Este mecanismo foi refinado com novas evidências mostrando que o alumínio regula independentemente as atividades de transporte de ácidos orgânicos e das  $H^+$ -ATPases, tanto em nível transcricional, como traducional e pós-traducional, sendo as modificações pós-translacionais mais associadas com mudanças na atividade da  $H^+$ -ATPase e não na quantidade desta enzima (Yang *et al.* 2011 B).

A absorção de cálcio tem sido fortemente afetada pela toxicidade do Al, em que diversos processos bioquímicos e fisiológicos,

envolvidos no crescimento da raiz são alterados (Rengel e Zhang 2003). O Al pode alterar o metabolismo dependente de cálcio mantendo os níveis de  $Ca^{2+}$  citosólico ou impedindo que o seu fluxo ocorra completamente (Panda *et al.* 2009). Tal mecanismo ainda não foi completamente elucidado, porém através de um sistema de emissão de energia de ressonância de fluorescência, foi possível observar que em raízes de *Arabidopsis* o fluxo de  $Ca^{2+}$  citosólico foi estimulado pelo Al, aumentando gradativamente, inicialmente na zona de maturação e propagando-se ao longo da coifa (Rincón-Zachary *et al.* 2010).

O citoesqueleto é uma rede dinâmica de componentes proteicos consistindo principalmente de microtúbulos e microfilamentos. Tais componentes do citoesqueleto têm sido envolvidos em uma variedade de funções celulares, como divisão celular, síntese da parede celular, movimento de organelas e crescimento da raiz (Seagull 1989), se tornando o alvo citosólico da toxicidade do Al. A dinâmica do citoesqueleto pode ser alterada através de uma interação direta deste metal com os elementos do citoesqueleto (microtúbulos e filamentos de actina) ou indiretamente, via alteração das cascatas de sinais, como os níveis de  $Ca^{2+}$  citosólico, que estão envolvidas na estabilização do citoesqueleto (Blancaflor *et al.* 1998, Sivaguru *et al.* 1999). No núcleo o Al é capaz de induzir aberrações nos cromossomos e aumentar a quantidade de micronúcleos, além de provocar uma queda no número de células mitóticas, inibindo assim a divisão celular (Yi *et al.* 2010).

Em certas condições fisiológicas, as plantas produzem quantidades significativas de superóxido e peróxido de hidrogênio. Essas espécies de oxigênio podem formar radicais hidroxila que causam a peroxidação lipídica, desnaturação de proteínas, mutação no DNA e inibição da fotossíntese (Bowler *et al.* 1992, Foyer *et al.* 1994). Em nível molecular, o estresse causado pelo Al provoca mudanças importantes no padrão de expressão dos genes, incluindo os de resposta ao estresse oxidativo (Maron *et al.* 2008). Em células de tabaco e em raízes de ervilha o íon Al afeta severamente as funções respiratórias das mitocôndrias e altera o seu status redox, levando a produção de ROS (Yamamoto *et al.* 2002). Também em células de tabaco, o Al promove uma distorção na arquitetura das membranas das mitocôndrias, reduz a quantidade de ATP e causa a fragmentação do núcleo (Panda *et al.* 2008).

Navascués *et al.* (2012) relataram que o estresse oxidativo não é a causa da toxicidade do Al e sim uma consequência, uma vez que  $10\mu M$  Al foi suficiente para inibir o crescimento da raiz e da parte aérea da leguminosa *Lotus corniculatus*, mas não provocou o acúmulo de ROS ou estresse oxidativo. No entanto  $20\mu M$  Al estimularam o acúmulo de ROS e o estresse oxidativo, inibindo a síntese proteica, aumentando a proteólise e intensificando os efeitos nas proteínas envolvidas na organização do citoesqueleto, metabolismo de ácidos orgânicos e carboidratos, regulação redox e respostas ao estresse.

Estudos mostram que o Al induz uma queda no conteúdo de clorofila, na taxa fotossintética, na condutância estomática e na taxa de transpiração das folhas (Ali *et al.* 2008, Ribeiro *et al.* 2013). O impacto deste metal na fotossíntese é indireto, uma vez que a queda na taxa fotossintética ocorre devido a uma redução no transporte de

elétrons no fotossistema II (Panda *et al.* 2009). O Al também interage com as vias de transdução de sinal, principalmente modificando as concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular e a homeostase de  $\text{H}^+$ . O íon Al pode inclusive, interagir e inibir uma enzima chave na transdução de sinal, a fosfolipase C da via do fosfoinositideo, associada com a sinalização de  $\text{Ca}^{2+}$  (Jones e Kochian 1997).

### Fungos micorrízicos e a biorremediação de metais no solo

As micorrizas são associações simbióticas mutualísticas entre os fungos do solo e as raízes das plantas. Esta associação surgiu há cerca de 450 milhões de anos e tem sido considerada de vital importância para a evolução das plantas terrestres (Smith e Read 2008). São reconhecidos três grupos principais de micorrizas: as micorrizas arbusculares caracterizadas pelo desenvolvimento de hifas inter e intracelular, formando intracelularmente estruturas como arbúsculos e vesículas, as ectomicorrizas cujo desenvolvimento intenso de hifas ao redor da raiz forma uma estrutura chamada de manto e o desenvolvimento ao redor das células do córtex forma a rede de Hartig, sem ocorrer a penetração de hifas nas células vegetais, e as micorrizas orquidoides, restritas às plantas da família Orchidaceae, possuindo crescimento intracelular de hifas formando estruturas emaranhadas e elaboradas, os pelotons, cuja função é fornecer açúcares simples para o embrião da planta (Smith e Read 2008, Imhof 2009).

O desenvolvimento da simbiose ectomicorrízica inclui quatro estágios. No estágio de pré-infecção ocorre o reconhecimento da hifa pelo hospedeiro e vice-versa, em que o fungo é atraído em direção à raiz através da germinação do esporo ou por um propágulo fúngico existente no solo, ocasionando a ramificação e o crescimento direcional da hifa e o estímulo do desenvolvimento de raízes laterais. Em seguida ocorre o estágio de Iniciação no qual a hifa estabelece contato físico se aderindo às células epidérmicas da raiz e começando a se diferenciar em diversas camadas ao redor da raiz formando o manto, e no interior da raiz, entre as células epidérmicas e corticais, formando a rede de Hartig, sendo este o estágio de diferenciação. Por fim, no estágio de funcionamento, ocorre a troca bidirecional de nutrientes entre os simbiossiontes, estabelecendo um equilíbrio em termos de colonização (Horan *et al.* 1988, Le Quéré *et al.* 2005).

No estágio de pré-infecção a hifa sente a presença da raiz hospedeira, uma vez que a planta secreta certas moléculas de sinalização na rizosfera, as quais parecem promover a germinação do esporo e o crescimento das hifas (Tagu *et al.* 2002). Foi demonstrado que o flavonol rutina liberado pelas raízes de eucalipto estimula o crescimento das hifas do fungo *Pisolithus microcarpus* (Lagrange *et al.* 2001), assim como a citoquinina zeatina foi capaz de induzir a ramificação em hifas de ectomicorrizas (Martin *et al.* 2001). Em exsudatos radiculares de *Pinus sylvestris* o ácido abiético foi identificado como indutor da germinação de esporos de *Suillus spp* (Fries *et al.* 1987).

Os fungos ectomicorrízicos também possuem moléculas sinalizadoras que modificam a morfologia radicular. Slankis (1973) reportou que raízes de *Pinus* não micorrizadas tratadas com auxina exógena, se desenvolviam similarmente às raízes de ectomicorrizas, a partir daí diversos autores relataram o envolvimento da auxina como molécula chave na sinalização e modificação do desenvolvimento da raiz durante o estabelecimento desta simbiose (Nehls, *et al.* 1998, Felten *et al.* 2009). Porém, em alguns fungos ectomicorrízicos até o mais alto nível de auxina produzida parece ser muito baixo para ser responsável pelo desenvolvimento de raízes laterais, como demonstrado pelo trabalho de Karabaghli-Degron *et al.* (1998), no qual foi necessário de 100-500  $\mu\text{M}$  de AIA exógeno para que ocorresse o desenvolvimento de raízes laterais em *Picea abies*. No entanto, quando em simbiose com o fungo *Laccaria bicolor*, o qual produz apenas 10 nm de AIA, o estímulo de raízes laterais foi notável.

Desta forma, uma nova teoria tem sido proposta, a qual sugere que a auxina produzida pelo fungo mudaria os níveis internos deste hormônio na planta, provocando a morfogênese radicular típica de ectomicorrizas (Splivallo *et al.* 2009, Felten *et al.* 2010). Sun *et al.* (2009) relataram que o transporte polar de auxina foi necessário para que o fungo pudesse estimular a formação de raízes laterais em plantas de *Arabidopsis*. Inclusive um membro específico da família PIN (proteínas transportadoras responsáveis pelo transporte polar de auxina) PtPin9 foi identificado como sendo necessário para o estímulo de raízes laterais induzidas pelo fungo ectomicorrízico. Esta proteína também é responsiva aos jasmônatos, compostos voláteis que, assim como o etileno, podem estar envolvidos indiretamente na biossíntese de auxina nos tecidos vegetais (Stepanova *et al.* 2007, Fukaki e Tasaka 2009).

Outra molécula produzida pelos fungos micorrízicos, encontrada em grandes quantidades em culturas axênicas do fungo *Pisolithus microcarpus* e altamente produzida na formação da ectomicorriza é o alcaloide indólico hifaforina (Beguiristain *et al.* 1995). Esta interfere na actina, no citoesqueleto microtubular (Ditengou *et al.* 2003) e no fluxo de cálcio dos pelos radiculares (Dauphin *et al.* 2007). Além disso, tem sido constatado que esta molécula age como um antagonista da auxina, pois promove uma redução na elongação dos pelos radiculares, que é uma característica marcante do desenvolvimento da ectomicorriza (Ditengou *et al.* 2000).

No entanto, em um trabalho feito por Nehls *et al.* (1998) foi demonstrada a capacidade da hifaforina de regular em raízes de eucalipto, a expressão de um gene regulado pela auxina, EgHypar, o qual codifica uma glutathione-S-transferase. Este gene também é regulado upstream durante a formação da ectomicorriza. Além disso, tem sido sugerida a participação da hifaforina em regular o transporte de AIA, induzir um mecanismo de detoxificação celular específico de auxina, competir com o AIA por algum receptor ou interferir no sinal de transdução da auxina (Baptista *et al.* 2011).

Existe uma alta especificidade fungo-hospedeiro quando se trata da associação ectomicorrízica, diferentemente como ocorre com as micorrizas arbusculares, as quais formam associações com 70% a

90% das espécies de plantas terrestres (Parniske 2008). Por exemplo, em se tratando do fungo *Pisolithus microcarpus*, existem duas estirpes diferentes, uma específica de *Pinus spp.* e outra específica de *Eucalyptus spp.* (Krüger e Filho 1979). Em um estudo realizado por Dell *et al.* (1994) duas estirpes de cada fungo, *Scleroderma* e *Pisolithus*, promoveram um maior acúmulo de massa seca quando micorrizados com *Eucalyptus grandis* do que quando micorrizados com *Casuarina equisetifolia* e *Allocasuarina littoralis*, além das associações com *Eucalyptus* e *Allocasuarina* terem manto e rede de Hartig totalmente diferenciados das associações com *Casuarina*.

A formação de ectomicorrizas no campo depende de vários fatores ambientais como disponibilidade de nutrientes, pH do solo, temperatura, disponibilidade de água, aeração, intensidade luminosa, interações com os microrganismos do solo e a toxicidade de certos pesticidas (Augé *et al.* 2001, Alves *et al.* 2001, Tagu *et al.* 2002). Os benefícios desta associação para a planta têm sido detalhadamente relatados, entre eles o mais comumente observado é a capacidade do fungo em solubilizar e absorver o fósforo (P) orgânico do solo, possibilitando que plantas micorrizadas possuam maior quantidade de P do que plantas sem micorriza (Lapeyrie *et al.* 1991, Colpaert *et al.* 1999).

Além do P, as ectomicorrizas possuem a capacidade de mobilizar outros nutrientes essenciais para as plantas a partir de fontes de minerais insolúveis, através de excreção de ácidos orgânicos, contribuindo, conseqüentemente, para a ciclagem de nutrientes e o equilíbrio dos fluxos desses elementos em ecossistemas florestais (Landerweert *et al.* 2001). As ectomicorrizas também fornecem uma maior proteção contra a seca como constatado por Osonubi *et al.* (1991) estudando *Acacia auriculiformis* e *Laucaena leucocephala* inoculadas com o fungo *Boletus suillus*, em que as plantas micorrizadas evitaram a perda de água mantendo um maior potencial de pressão do xilema e conteúdo de água na folha.

Espécies vegetais como *Pinus sylvestris* e *Pseudotsuga menziesii* em associação com *Laccaria laccata* e *Pisolithus microcarpus* também se beneficiam da proteção contra patógenos como o *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* e *Rhizoctonia solani*. Hipotetiza-se que esta proteção ocorra devido ao fungo micorrízico estimular a planta a produzir compostos fenólicos, os quais promovem uma resistência da raiz a patógenos, ou então o fato do fungo formar uma associação com a planta, estimular o seu crescimento e assim aumentar a sobrevivência de plantas jovens (Chakravarty e Unestam 1987, Sylvia e Sinclair 1983).

Considerável atenção tem sido focada no potencial do uso de plantas para remediar solos contaminados com metais, principalmente se utilizadas em conjunto com microrganismos bioacumuladores, como as ectomicorrizas (Luo *et al.* 2013). No entanto, os efeitos benéficos dependem da espécie do fungo, da planta, do metal envolvido e das condições do solo que cercam a associação ectomicorrízica e afetam a biodisponibilidade do metal (Galli *et al.* 1994, Meharg 2003). Foi testado e comprovado o melhoramento dos efeitos da toxicidade de

diversos metais, como Cd, Zn, Cu, Cr, Ni, Al, Mn e Pb nas plantas colonizadas por fungos ectomicorrízicos (Van Tichelen *et al.* 2001, Adriaensen *et al.* 2003, Dueié, *et al.* 2008).

No entanto, os mecanismos envolvidos em aumentar essa tolerância são diversos e possuem uma alta especificidade entre metais, plantas e fungos (Hartley *et al.* 1997). Por exemplo, em um estudo realizado por Ray *et al.* (2005) foi testado o nível de tolerância de oito ectomicorrizas em relação a diversas concentrações de seis diferentes metais (Al, As, Cd, Cr, Ni e Pb), concluindo que apenas três isolados (*Hysterangium incarceratum*, *Laccaria fraterna* e *Pisolithus microcarpus*) apresentaram tolerância considerável aos metais em questão.

O manto fúngico pode consistir em uma barreira impedindo a absorção dos metais pela planta hospedeira (Khan *et al.* 2000). Também existem mecanismos bioquímicos, os quais incluem processos de precipitação extracelular e processos que ocorrem na parede celular como cristalização e biossorção através da adsorção química, física ou de troca iônica. Podem ocorrer também processos internos nas células dos fungos, em que os metais são complexados, compartimentalizados ou volatilizados (Gadd 1993).

A parede celular do fungo possui uma importante propriedade de proteção, pois representa a primeira barreira ao acesso de metais e outros solutos potencialmente tóxicos à célula e também afeta, indiretamente, a composição iônica intracelular pelo fato de restringir a água celular (Gadd 1993). Ácidos orgânicos e pigmentos como a melanina estão presentes na hifosfera e podem complexar ou precipitar os metais. O ácido cítrico pode ser um eficiente quelante metal-íon e o ácido oxálico pode interagir com os metais na sua forma iônica e formar cristais insolúveis de oxalato ao redor da parede celular e no meio externo (Murphy e Levy 1983).

A principal função descrita até então para as melaninas fúngicas tem sido relacionada à sua atividade quelante e sua alta afinidade por metais como Pb, Cu, Ni, Co, Mn, entre outros (Larsson e Tjalve 1978). Estudos utilizando ressonância eletrônica de spin demonstraram que o mecanismo de interação dos íons metálicos com este pigmento ocorre através da ligação destes ao centro radical da o-semiquinona existente nos polímeros de melanina formando complexos quelantes (Felix *et al.* 1978).

O transporte de metais na membrana plasmática ocorre devido a presença de transportadores secundários nas membranas, sendo as bombas de H<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>-ATPases do tipo P e V, os sistemas primários. O mecanismo de ação das H<sup>+</sup>-ATPases consiste, basicamente, no bombeamento de prótons do interior para o exterior da célula (Sanders e Bethke 2000). Os prótons bombeados retornam ao meio intracelular através de proteínas carreadoras e juntamente a eles, através do co-transporte, os metais entram na célula (Rensing *et al.* 1999). No citosol ocorre a quelação dos metais por ligantes de alta afinidade, os quais podem ser aminoácidos, ácidos orgânicos e duas classes de peptídeos, as fitoquelatinas e as metalotioneínas (Rausser 1999, Clemens 2001). Em seguida o complexo metal-quelante é transportado em direção ao vacúolo, onde as V-ATPases também geram um gradiente de prótons possibilitando a entrada deste

complexo no vacúolo por meio de um transporte do tipo antiporte (Okorokov *et al.* 1985). No interior deste compartimento o metal é acumulado e posteriormente será eliminado.

---

## Agradecimentos

A Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), ao Laboratório de Biologia Celular e Tecidual e ao Laboratório de Melhoramento e Genética Vegetal pelo apoio à pesquisa e por disponibilizar a estrutura para o desenvolvimento do trabalho. A CAPES e FAPERJ pelo auxílio financeiro.

---

## Referências

- Adriansen K, Lelie DVD, Laere AV, Vangrosveld J, Colpaert JV (2003) A zinc-adapted fungus protects pines from zinc stress. **New Phytologist** 161: 549-555.
- Ahn SJ, Rengel Z, Matsumoto H (2004) Aluminum-induced plasma membrane surface potential and H<sup>+</sup>-ATPase activity in near-isogenic wheat lines differing in tolerance to aluminum. **New Phytologist** 162: 71-79.
- Ahn SJ, Sivaguru M, Osawa H, Chung GC, Matsumoto H (2001) Aluminum inhibits the H<sup>+</sup>-ATPase activity by permanently altering the plasma membrane surface potentials in squash roots. **Plant Physiology** 126: 1381-1390.
- Ali B, Hasan SA, Hayat S, Hayat Q, Yadav S, Fariduddin Q, Ahmad A (2008) A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **Environmental and Experimental Botany** 62: 153-159.
- Alves JR, Souza O, Podlech PAS, Giachini AJ, Oliveira VL (2001) Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-sólida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36: 307-313.
- Alves RMN (1997) **Comportamento diferencial ao Al em solução nutritiva de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), sensível e tolerante e das espécies florestais *Cássia Verrugosa* (*Senna multijuga* (L.C. Rich.)) e *Ipê Mirin* (*Stenolobium stans* (Jun.))**. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.
- Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal. **Mycorrhiza** 11: 3-42.
- Baptista P, Tavares RM, Lino-Neto, T (2011) Signaling in ectomycorrhizal symbiosis establishment. **Diversity and Biotechnology of Ectomycorrhizae Soil Biology** 25: 157-175.
- Barceló J, Poschenrieder C (2002) Fast root growth responses, root exudates and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance. **Environmental and Experimental Botany** 48: 75-92.
- Beguiristain T, Cote R, Rubini P, Jay-Allemand C, Lapeyrie F (1995) Hypaphorine accumulation in hyphae of the ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius*. **Phytochemistry** 40: 1089-1091.
- Bellion M, Courbot MC, Jacob C, Blaudez D, Chalot M (2006) Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters** 254: 173-181.
- Bisinoti MC, Yabe MJS, Gimenez SMN (2004) Avaliação da influência de metais pesados no sistema aquático da bacia hidrográfica da cidade de Londrina PR. **Revista Analítica** 8: 22-27.
- Blancaflor EB, Jones DL, Gilroy S (1998) Alterations in the cytoskeleton accompany aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. **Plant Physiology** 118: 159-172.
- Bowler C, Van Montagu M, Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 43: 83-116.
- Chakravarty P, Unestam T (1987) Differential influence of ectomycorrhizae on plant growth and disease resistance in *Pinus sylvestris* seedlings. **Journal of Phytopathology** 120: 104-120.
- Chang Y-C, Yamamoto Y, Matsumoto H (1999) Accumulation of aluminium in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells treated with a combination of aluminium and iron. **Plant, Cell & Environment** 22: 1009-1017.
- Clemens S (2001) Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta** 212: 475-486.
- Colpaert JV, Van Tichelen KK, Van Assche JA, Laere AV (1999) Short-term phosphorus uptake rates in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of intact *Pinus sylvestris* seedlings. **New Phytologist** 143: 589-597.
- Dauphin A, Gerard J, Lapeyrie F, Legue V (2007) Fungal hypaphorine reduces growth and induces cytosolic calcium increase in root hairs of *Eucalyptus globulus*. **Protoplasma** 231: 83-88.
- Delhaize E, Ryan PR (1995) Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology** 107: 315-321.
- Delhaize E, Ryan PR, Randall P (1993) Aluminium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminium-stimulated excretion of malic acid from root apices. **Plant Physiology** 103: 695-702.
- Dell B, Malajczuk N, Bougher NL, Thomson G (1994) Development and function of *Pisolithus* and *Escleroderma* ectomycorrhizas formed in vivo with *Allocasuarina*, *Casuarina* and *Eucalyptus*. **Mycorrhiza** 5: 129-138.
- Ditengou FA, Béguiristain T, Lapeyrie F (2000) Root hair elongation is inhibited by hypaphorine, the indole alkaloid from the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*, and restored by indole-3-acetic acid. **Planta** 211: 722-728.
- Ditengou EA, Raudaskoski M, Lapeyrie F (2003) Hypaphorine, an indole-3-acetic acid antagonist delivered by the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*, induces reorganisation of actin and the microtubule cytoskeleton in *Eucalyptus globulus* ssp *bicostata* root hairs. **Planta** 218: 217-225.
- Dueié T, Parladé J, Polee A (2008) The influence of the ectomycorrhizal fungus *Rhizopogon subareolatus* on growth and nutrient element localization in two varieties of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* and var. *glauca*) in response to manganese stress. **Mycorrhiza** 18: 227-239.
- Façanha AR, De Meis L (1995) Inhibition of maize root H<sup>+</sup>-ATPase by fluoride and fluoroaluminate complexes. **Plant Physiology** 108: 241-246.
- Façanha AR, Okorokova-Façanha A (2002) Inhibition of phosphate uptake in corn roots by aluminum-fluoride complexes. **Plant Physiology** 129: 1763-1772.
- Felix CC, Hyde JS, Sarna T, Sealy RC (1978) Interactions of melanin with metal ions. Electron spin resonance evidence for chelate complexes of metal ions with free radicals. **American Chemical Society** 100: 3922-3926.
- Felten J, Kohler A, Morin E, Bhalerao RP, Palme K, Martin F, Ditengou EA, Legué V (2009) The ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* stimulates

- lateral root formation in poplar and Arabidopsis through auxin transport and signaling. **Plant Physiology** 151: 1991-2005.
- Felten J, Legué V, Ditengou EA (2010) Lateral root stimulation in the early interaction between *Arabidopsis thaliana* and the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. **Plant Signaling & Behavior** 5: 864-867.
- Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ (1994) Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment** 17: 507-523.
- Frantzios G, Galatis B, Apostolakis P (2001) Aluminum effects on microtubule organization in dividing root tip cells of *Triticum turgidum*. II. Cytokinetic cells. **Journal of Plant Research** 114: 157-170.
- Fries N, Serck-Hanssen K, Häll Dimberg L, Theander O (1987) Abietic acid, an activator of basidiospore germination in ectomycorrhizal species of the genus *Suillus* (Boletaceae). **Experimental Mycology** 11: 360-363.
- Fukaki H, Tasaka M (2009) Hormone interactions during lateral root formation. **Plant Molecular Biology** 69: 437-449.
- Gadd GM (1993) Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist** 124: 25-60.
- Galli U, Schuepp H, Brunold C (1994) Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. **Physiologia Plantarum** 92: 364-368
- Hall JL (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany** 53: 1-11.
- Hartley J, Cairney JWG, Meharg AA (1997) Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment? **Plant and Soil** 189: 303-319.
- Horan DP, Chilvers GA, Lapeyrie FF (1988) Time sequence of the infection process in eucalypt ectomycorrhizas. **New Phytologist** 109: 451-458.
- Horst WJ (1995) The role of the apoplast in aluminum toxicity and resistance of higher plants: A review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 158: 419-428.
- Imhof S (2009) Arbuscular, ecto-related, orchid mycorrhizas-three independent structural lineages towards mycoheterotrophy: implications for classification. **Mycorrhiza** 19: 357-363.
- Jones DL, Kochian LV (1997) Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity. **FEBS Letters** 400: 51-57.
- Jones DL, Kochian LV Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: A role in aluminum toxicity?. (1995) **Plant Cell** 7: 1913-1922.
- Karabaghli-Degron C, Sotta B, Bonnet M, Gay G, Le Tacon F (1998) The auxin transport inhibitor 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) inhibits the stimulation of in vitro lateral root formation and the colonization of the tap-root cortex of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. **New Phytologist** 140: 723-733.
- Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere** 41: 197-207.
- Kinraide TB (1991) Identity of the rhizotoxic aluminum species. **Plant and Soil** 134: 167-178.
- Kochian LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annuals Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 46: 237-260.
- Kochian LV, Piñeros MA, Hoekenga OA (2005) The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. **Plant and Soil** 274: 175-195.
- Krugner TL, Filho MT (1979) Tecnologia de inoculação micorrízica em viveiro de *Pinus* spp. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais** 71: 1-5.
- Lagrange H, Jay-Allmand C, Lapeyrie F (2001) Rutin, the phenolglycoside from eucalyptus root exudates, stimulates *Pisolithus* hyphal growth at picomolar concentrations. **New Phytologist** 149: 349-355.
- Landerweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, Breemen NV (2001) Linking plants to rocks: Ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. **TRENDS in Ecology & Evolution** 16: 248-254.
- Lapeyrie F, Ranger J, Vairelles D (1991) Phosphate solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. **Canadian Journal of Botany** 69: 342-346.
- Larsson B, Tjälve H (1978) Studies on the melanin-affinity of metal ions. **Acta Physiologica Scandinavica** 104: 479-484.
- Le Quéré A, Wright DP, Söderström B, Tunlid A, Johansson T (2005) Global patterns of gene regulation associated with the development of ectomycorrhiza between Birch (*Betula pendula* Roth.) and *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 18: 659-673.
- Lobão FA, Façanha AR, Okorokov LA, Dutra KR, Okorokova-Façanha AL (2007) Aluminum impairs morphogenic transition and stimulates H<sup>+</sup> transport mediated by the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of *Yarrowia lipolytica*. **FEMS Microbiology Letters** 274: 17-23.
- Luo Z-B, Wu C, Zhang C, Li H, Lipka U, Polle A (2013) The role of ectomycorrhizas in heavy metal stress tolerance of host plants. **Environmental and Experimental Botany** In press-Accepted manuscript.
- Ma JF, Shen R, Nagao S, Tanimoto E (2004) Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. **Plant Cell Physiology** 45: 583-589.
- Maron LG, Kirst M, Mao C, Milner MJ, Menossi M, Kochian LV (2008) Transcriptional profiling of aluminum toxicity and tolerance responses in maize roots. **New Phytologist** 179: 116-128.
- Martin F, Duplessis S, Ditengou F, Lagrange H, Voiblet C, Lapeyrie F (2001) Developmental cross talking in the ectomycorrhizal symbiosis signals and communication genes. **New Phytologist** 151: 145-154.
- McGrath SP, Chaudri AM, Giller KE (1995) Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. **Journal of Industrial Microbiology** 14: 94-104.
- Meharg AA (2003) The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. **Mycological Research** 107: 1253-1265.
- Mishra S, Dubey RS (2006) Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. **International Journal of Agricultural Research** 1: 122-141.
- Murphy RJ, Levy JF (1983) Production of copper oxalate by some copper tolerant fungi. **Transactions of the British Mycological Society** 81: 165-168.
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM (2010) Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemical Letters** 8: 199-216.
- Navascués J, Pérez-Rontomé C, Sánchez DH, Staudinger C, Wienkoop S, Rellán-Álvarez R, Becana M (2012) Oxidative stress is a consequence, not a cause, of aluminum toxicity in the forage legume *Lotus corniculatus*. **New Phytologist** 193: 625-636.
- Nehls U, Beguiristain T, Ditengou F, Lapeyrie F, Martin F (1998) The expression of a symbiosis regulated gene in eucalypt roots is regulated by auxins and hypaphorine, the tryptophan betaine of the ectomycorrhizal basidiomycete *Pisolithus tinctorius*. **Planta** 207: 296-302.
- Nouri J, Khorasani N, Lorestani B, Karami N, Hassani AH, Yousefi N (2009) Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. **Environmental Earth Science** 59: 315-323.
- Okorokov LA, Kulakovskaya TV, Lichko LP, Polorotova EV (1985) H<sup>+</sup> ion

- antiport as the principal mechanism of transport systems in the vacuolar membrane of the yeast *Saccharomyces carlsbergensis*. **Federation of European Biochemical Societies** 192: 303-306.
- Osonubi O, Mulongoy K, Awotoye OO, Atayese MO, Okali DUU (1991) Effects of ectomycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on drought tolerance of four leguminous woody seedlings. **Plant and Soil** 136: 131-143.
- Panda SK, Baluska F, Matsumoto H (2009) Aluminum stress signaling in plants. **Plant Signaling & Behavior** 4: 592-597.
- Panda SK, Yamamoto Y, Kondo H, Matsumoto H (2008) Mitochondrial alterations related to programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress. **C. R. Biology** 331: 597-610.
- Parniske M (2008) Arbuscular mycorrhiza-the mother of plant root endosymbioses. **Nature** 6: 763-775.
- Rausser W E (1999) Structure and function of metal chelators produced by plants – the case for organic acids, amino acids, phytin and metallothioneins. **Cell Biochemistry and Biophysics** 31: 19-48.
- Ray P, Tiwari R, Gangi Reddy U, Adholeya A (2005) Detecting the heavy metal tolerance level in ectomycorrhizal fungi in vitro. **World Journal of Microbiology & Biotechnology** 21: 309-315.
- Rengel Z, Zhang WH (2003) Role of dynamics of intracellular calcium in aluminium-toxicity syndrome. **New Phytologist** 159: 295-314.
- Rensing C, Ghosh M, Rosen BP (1999) Families of soft metal ion transporting ATPases. **Journal of Bacteriology** 181: 5891-5897.
- Ribeiro MAQ, Almeida AAF, Mielke MS, Gomes FP, Pires MV, Baligar VC (2013) Aluminum effects on growth photosynthesis, and mineral nutrition of cacao genotypes. **Journal of Plant Nutrition** 36: 1161-1179.
- Rincón-Zachary M, Teaster ND, Sparks JA, Valster AH, Motes CM, Blancaflor EB (2010) Fluorescence resonance energy transfer-sensitized emission of yellow Cameleon 3.60 reveals root zone-specific calcium signatures in Arabidopsis in response to aluminum and other trivalent cations. **Plant Physiology** 152: 1442-1458.
- Samac AD, Tesfaye M (2003) Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 75: 189-207.
- Sanders D, Bethke P (2000) Membrane transport. In, **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville, American Society of Plant Physiologists, pp 110-158.
- Seagull RW (1989) The plant cytoskeleton. **Critical Reviews in Plant Science** 8: 131-167
- Shen H, He LF, Sasaki T, Yamamoto Y, Zheng SJ, Ligaba A, Yang XL, Ahn SJ, Yamaguchi M, Sasakawa H, Matsumoto H (2005) Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. **Plant Physiology** 138: 287-296.
- Silva IR, Smyth TJ, Moxley DF, Carter TE, Allen NS, Rufty TW (2000) Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy. **Plant Physiology** 123: 543-52.
- Sivaguru M, Baluska F, Volkmann D, Felle HH, Horst WJ (1999) Impacts of aluminum on the cytoskeleton of the maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone. **Plant Physiology** 119: 1073-1082.
- Slankis V (1973) Hormonal relationships in mycorrhizal development. In, Marks GC, Kozłowski TT (Org) **Ectomycorrhizae: their ecology and physiology**. New York, Academic Press, pp 231–298.
- Smith SE, Read DJ (2008) **Mycorrhizal Symbiosis**. London, Academic Press.
- Splivallo R, Fischer U, Gobel C, Feussner I, Karlovsky P (2009) Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene. **Plant Physiologist** 150: 2018-2029.
- Stepanova AN, Yun J, Likhacheva AV, Alonso JM (2007) Multilevel interactions between ethylene and auxin in Arabidopsis roots. **Plant Cell** 19: 2169-2185.
- Sun J, Xu Y, Ye S, Jiang H, Chen Q, Liu F, Zhou W, Chen R, Li X, Tietz O, Wu X, Cohen JD, Palme K, Li C (2009) *Arabidopsis* ASA1 is important for jasmonate-mediated regulation of auxin biosynthesis and transport during lateral root formation. **The Plant Cell** 21: 1495-1511.
- Sylvia DM, Sinclair WA (1983) Phenolic compounds and resistance to fungal pathogens induced in primary roots of Douglas-Fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. **Phytopathology** 73: 390-397.
- Tabuchi A, Matsumoto H (2001) Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. **Physiologia Plantarum** 112: 353-358.
- Tagu D, Lapeyrie F, Martin F (2002) The ectomycorrhizal symbiosis genetics and development. **Plant and Soil** 244: 97-105.
- Taylor G, McDonald-Stephens J, Hunter D, Bertsch P, Elmore D, Rengel Z, Reid R (2000) Direct measurement of aluminum uptake and distribution in single cells of *Chara corallina*. **Plant Physiology** 123: 987-996.
- Van Tichelen KK, Colpaert JV, Vangrosveld J (2001) Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. **New Phytologist** 150: 203-213.
- Vardar F, Unal M (2007) Aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Advances in Molecular Biology** 1: 1-12.
- Von Uexkull HR, E Mutert (1995) Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant and Soil** 171: 1-15.
- Wallace SU, Andersen I C (1984) Aluminum toxicity and DNA synthesis in wheat roots. **Agronomy Journal** 76: 5-8.
- Yamamoto Y, Kobayashi Y, Devi SR, Rikiishi S, Matsumoto H (2002) Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells. **Plant Physiology** 128: 63-72.
- Yang JL, Li YY, Zhang YJ, Zhang SS, Wu YR, Wu P, Zheng SJ (2008) Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. **Plant Physiology** 146: 602-611.
- Yang JL, Zhu FX, Peng YX, Zheng C, Li, GX, Liu Y, Shi YZ, Zheng SJ (2011 A) Cell wall hemicellulose contributes significantly to aluminum adsorption and root growth in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** 155: 1885-1892.
- Yang JL, Zhu XF, Peng YX, Zheng C, Ming F, Zheng SJ (2011 B) Aluminum regulates oxalate secretion and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity independently in tomato roots. **Planta** 234: 281-291.
- Yang ZB, You JF, Xu MY, Yang ZM (2009) Interaction between aluminum toxicity and manganese toxicity in soybean (*Glycine max*). **Plant Soil** 319: 277-289.
- Yi M, Yi H, Li H, Wu L (2010) Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei, and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*. **Environmental Toxicology** 25: 124-129.