

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/08/2019.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)**

**O ALUMÍNIO INTERFERE NA MOVIMENTAÇÃO ESTOMÁTICA DE
LIMOEIRO ‘CRAVO’ EM RESPOSTA À VARIAÇÃO DO DÉFICIT DE
PRESSÃO DE VAPOR**

GISELLE SCHWAB SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências biológicas (Biologia Vegetal).

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)**

**O ALUMÍNIO INTERFERE NA MOVIMENTAÇÃO ESTOMÁTICA DE
LIMOEIRO ‘CRAVO’ EM RESPOSTA À VARIAÇÃO DO DÉFICIT DE
PRESSÃO DE VAPOR**

GISELLE SCHWAB SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. GUSTAVO HABERMANN

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia vegetal).

580 Silva, Giselle Schwab
S586a O alumínio interfere na movimentação estomática de
limoeiro '\Cravo\' em resposta à variação do déficit de pressão
de vapor / Giselle Schwab Silva. - Rio Claro, 2018
44 f. : il., figs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Gustavo Habermann

1. Botânica. 2. Trocas gasosas. 3. Hidratação foliar. 4.
Efeitos do Al a longa distância. 5. Citrus limonia. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: O alumínio interfere na movimentação estomática de limoeiro "Cravo" em resposta à variação do déficit de pressão de vapor?

AUTORA: GISELLE SCHWAB SILVA

ORIENTADOR: GUSTAVO HABERMANN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), área: BIOLOGIA VEGETAL pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GUSTAVO HABERMANN
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Prof. Dr. EDUARDO CARUSO MACHADO
Seção de Ecofisiologia e Biofísica / Instituto Agrônomo de Campinas



Dr. LUCIANO PEREIRA
Biologia Vegetal / Unicamp - Instituto de Biologia

Rio Claro, 22 de fevereiro de 2018

“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”

- Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais (Soeli e Jackson), que de vocês recebi todo carinho, amor e dedicação, sempre me apoiando, ensinando, compreendendo, e me incentivando a correr atrás dos meus sonhos. Sem seus esforços e seus exemplos de humildade e dignidade eu não teria chegado até aqui! Fica aqui toda a minha gratidão e meu amor a vocês.

Aos meus queridos irmãos (Jackeline e Victor) por todo o amor, conselho, torcida e apoio. Vocês me inspiram como pessoa. Amo vocês.

Ao meu parceiro de vida, Matheus, por ter enfrentado essa jornada ao meu lado. Agradeço sempre pela oportunidade em compartilhar minha vida com você, seu coração enorme, sua forma de levar a vida e sua paciência me fazem ter fé em um mundo melhor. Muito obrigada por ter feito do meu sonho o seu sonho e por ter acreditado em mim em momentos em que tive dúvidas. Te amo!

Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Habermann pelos seus ensinamentos, por ser um excelente orientador e professor, e por me fazer ter outra visão da ciência nesses dois anos de trabalho. Agradeço pela paciência, críticas, pela disponibilidade, e o fato de sempre estimular nossas capacidades sempre ressaltando a importância da união e do trabalho em equipe. Sou eternamente grata e tenho certeza que levarei os seus ensinamentos para sempre comigo.

Aos amigos do grupo de pesquisa, Anna, Branca, Brenda, Carol, Lorena, Mariana, Marina, por todo o apoio. Obrigada por terem me acolhido, e pela amizade nesses dois anos.

A minha amiga, irmã de coração e parceira de trabalho, Marina Gavassi. Agradeço imensamente por ter você em minha vida, e por ser essa pessoa de coração gigante e inspiradora que tu és. Acredito que sem a sua cumplicidade nada disso seria possível. Muitíssimo obrigada!

A minha irmãzinha do coração, Vanessa, que ao longo desses 14 anos de amizade compartilhou junto os momentos das grandes conquistas, alegrias, tristezas e dificuldades, demonstrando que as verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias.

A todos os meus familiares, colegas e amigos pelo apoio durante esta caminhada.

Aos integrantes da banca avaliadora por aceitar o convite e pelo comprometimento com a avaliação desse trabalho.

Ao Instituto de Biociência da Unesp de Rio Claro pelo apoio e infraestrutura.

A CAPES pelo apoio e auxílio financeiro.

INDÍCE

RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
1. INTRODUÇÃO.....	09
2. REFERÊNCIAS.....	10
3. CAPÍTULO ÚNICO: Aluminum prevents stomatal conductance from responding to vapor pressure deficit in <i>Citrus limonia</i>.....	14
Abstract.....	15
Introduction.....	16
Material and Methods.....	18
Results.....	22
Discussion.....	25
Acknowledgements.....	28
References.....	29
Tables.....	35
Figures.....	36
Supplementary material.....	44

O ALUMÍNIO INTERFERE NA MOVIMENTAÇÃO ESTOMÁTICA DE LIMOEIRO ‘CRAVO’ EM RESPOSTA À VARIAÇÃO DO DÉFICIT DE PRESSÃO DE VAPOR?

RESUMO

O primeiro sintoma de toxicidade ao alumínio (Al) é a inibição do crescimento da raiz, que indiretamente as expõe a uma baixa disponibilidade de água, reduzindo, dessa forma, a hidratação do mesofilo e a condutância estomática (g_s). A abertura estomática geralmente aumenta em resposta à baixo déficit de pressão de vapor (DPV) e diminui em elevado DPV. No presente trabalho, plantas de *Citrus limonia* (limoeiro ‘Cravo’) foram cultivadas em solução nutritiva com 1480 μM de Al por 90 dias, para testar a hipótese de que presença de Al impede que g_s responda ao DPV. Como esperado, g_s não respondeu ao aumento no DPV em plantas expostas ao Al. Além disso, o Al também reduziu o conteúdo relativo de água e o potencial de água “midday” (Ψ_{md}) aos 60 e 90 dias após o plantio. A assimilação de CO_2 (A) seguiu o mesmo padrão de resposta observado em g_s , enquanto que as respostas fotoquímicas foram ligeiramente reduzidas em plantas expostas ao Al, indicando que diminuições em A induzidas pelo Al foi dependente de g_s e menos atribuída a baixa performance fotoquímica. Como em condições de seca, longo tempo de exposição ao Al reduz a hidratação foliar comprometendo g_s de responder a atmosfera, consequentemente prejudicando A em plantas de limoeiro ‘Cravo’.

Palavras-chave: Trocas gasosas; Hidratação foliar; efeitos do Al a longa distância; *Citrus limonia*.

ABSTRACT

Aluminum (Al) is toxic for most plants. Aluminum (Al) inhibits root growth, indirectly exposing the roots to low water availability, which decreases leaf hydration and, consequently, the stomatal conductance (g_s). Stomatal aperture generally increases in response to low vapor pressure deficit (VPD) and decreases at high VPD. In this study, *Citrus limonia* ('Rangpur' lime) was cultivated in nutrient solution with 1480 μM Al for 90 days, and we expected that the presence of Al could prevent g_s from responding to VPD. As expected, g_s did not respond to the increase in VPD in plants exposed to Al. Aluminum also reduced the relative water content and midday leaf water potential (Ψ_{md}) at 60 and 90 days after planting. The CO_2 assimilation rate (A) followed the same response pattern exhibited by g_s while photochemical responses were mildly reduced in plants exposed to Al, indicating that the Al-induced decrease in A was dependent on g_s and less ascribed to low photochemical performance. Like in drought conditions, the long-term exposure to Al reduces leaf hydration and compromises g_s responses to the atmosphere, eventually impairing A in 'Rangpur' lime plants.

Keywords: Leaf gas exchange; Leaf hydration; Long-distance Al effects; *Citrus limonia*;

1. INTRODUÇÃO

O Alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante da crosta terrestre, naturalmente, encontrado no solo nas formas não tóxicas de óxidos e aluminosilicatos (Vitorello et al, 2005). Em solos ácidos ($\text{pH} < 5.0$), o Al é solubilizado na forma Al^{3+} que é potencialmente tóxico para a maioria das plantas (Horst et al., 2010). Pelo fato de solos ácidos ocorrerem em aproximadamente 30 – 45% das terras livres de gelo no mundo, sendo que na América do Sul cerca de 60% dos solos têm pH abaixo de 5,0 (vonUexküll & Mutert, 1995), a toxicidade ao Al é um dos principais fatores limitantes à produtividade vegetal em solos ácidos (Kochian, 1995).

Um dos primeiros sintomas de toxicidade ao Al é a inibição do crescimento da raiz (Horst et al., 2010; Samac & Tesfaye, 2003), que pode ser detectado em poucas horas de exposição ao Al (Koppittke et al., 2008). Acredita-se que essa inibição ocorra devido à ligação do Al com as substâncias pécticas no apoplasto das células da raiz (Koppittke et al., 2015), que diminui a extensibilidade da parede celular (Ma et al., 2004) e, indiretamente, expõe as raízes à uma baixa disponibilidade de água.

O efeito deletério do Al nas raízes ocasiona efeitos indiretos, levando a reduções no crescimento da parte aérea. Dentre esses efeitos, o Al reduz a assimilação de CO_2 (A) em plantas de tangerineira ‘Cleopatra’ (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka) (Chen et al., 2005), em cafeeiro (*Coffea arabica*) (Konrad et al., 2005) e em *Citrus grandis* (Jiang et al., 2008, 2009). Esses autores atribuem as reduções em A à baixa performance fotoquímica, apesar de reduções na condutância estomática (g_s) também serem observadas nesses estudos. Por outro lado, em plantas de limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia*) expostas ao Al, a redução pronunciada de g_s parece ser mais importante do que variações no desempenho fotoquímico para explicar reduções em A (Banhos et al., 2016). Esses autores também evidenciaram a presença de vasos de xilema fibrosos no estelo, sugerindo uma dificuldade intrínseca da raiz em absorver e transportar água para o mesofilo, causando, dessa forma, diminuições em g_s .

A condutância estomática responde à alterações que ocorrem no ambiente, tais como mudanças na concentração de CO_2 , luminosidade, temperatura do ar, umidade relativa, disponibilidade de água, etc. (Farquhar and Sharkey, 1982; Chaves et al., 2016). A disponibilidade de água no solo afeta a hidratação do mesofilo, de maneira que baixo potencial da água no solo (Ψ_{solo}), pode ocasionar diminuição na hidratação do mesofilo e, conseqüentemente, reduzir g_s (Schulze, 1986; Chaves et al., 2002). Além disso, a água chega ao mesofilo proveniente das raízes para substituir a água perdida para a atmosfera que,

dependendo da temperatura do ar e da umidade, pode ter diferentes déficits de pressão de vapor (DPV). O DPV também é um fator que exerce influência em g_s para uma grande variedade de espécies (Lange et al., 1971; Habermann et al., 2003; McAdam and Brodribb, 2015), levando à diminuição em g_s quando as folhas são expostas ao ar seco (DPV elevado) e aumentando g_s quando as folhas são expostas a uma atmosfera com maior umidade relativa do ar (baixo DPV). Embora os mecanismos por trás dessas respostas não sejam ainda bem estabelecidos, acredita-se que os estômatos se fechem passivamente devido a uma baixa concentração de água no mesofilo, possivelmente induzido pela demanda evaporativa (Lange et al., 1971; Mott and Peak, 2013).

Plantas de *Citrus* são cultivadas em regiões temperadas, tropicais e subtropicais do mundo, crescendo principalmente em solos ácidos ricos em Al. O limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia*) é um importante porta-enxerto muito utilizado na citricultura brasileira e paulista não irrigada (Santos et al., 1999; Pereira et al., 2000). Isso porque possui sistema radicular profundo, o que garante resistência à seca (Magalhães Filho et al., 2008). Portanto, a presença de Al no solo pode causar um grande impacto nas relações hídricas dessas plantas, com implicações em suas taxas de trocas gasosas e em seu crescimento. Dessa maneira, no presente trabalho, investigamos a sensibilidade dos estômatos de plantas de limoeiro ‘Cravo’ cultivadas em solução nutritiva com 1480 μM Al à mudança no DPV. Para isso, modificamos o DPV de 1.5 kPa para 2.5 kPa na câmara de medidas de um medidor de trocas gasosas, para testar a hipótese de que a presença de Al na solução nutritiva impede g_s de responder ao DPV.

2. REFERÊNCIAS

- Banhos, O.F.A.A., Carvalho, B.M.O., Veiga, E.B., Bressan, A.C.G., Tanaka, F.A.O., Habermann, G., 2016. Aluminum-induced decrease in CO₂ assimilation in ‘Rangpur’ lime is associated with low stomatal conductance rather than low photochemical performances. *Sci. Hortic.* 205, 133-140.
- Chaves, M.M., Costa, J.M., Zarrouk, O., Pinheiro, C., Lopes, C.M., Pereira, J.S. 2016. Cotrolling stomatal aperture in semi-arid regioes – The dilemma of saving water or being cool? *Plant Sci.* 251, 54-64.

- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T., Pinheiro, C., 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann. Bot.* 89, 907-916.
- Chen, L.S., Qi, Y.P., Smith, B.R., Liu, X.H., 2005b. Aluminum-induced decrease in CO₂ assimilation in Citrus seedlings is unaccompanied by decreased activities of key enzymes involved in CO₂ assimilation. *Tree Physiol.* 25, 317-324.
- Farquhar, G.D., Sharkey, T.D., 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 33, 317-345.
- Habermann, G., Machado, E.C., Rodrigues, J.D., Medina, C., 2003. Gas exchange rates at different vapor pressure deficits and water relations of 'Pera' sweet orange plants with Citrus Variegated Chlorosis (CVC). *Sci. Hortic.* 98, 233-245.
- Horst, W.J., Wang, Y., Eticha, D., 2010. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Ann. Bot.* 106, 187-197.
- Jiang, H-X., Chen, L-S., Zheng, J-G., Han, S., Tang, N., Smith, B.R., 2008. Aluminum-induced effects on photosystem II photochemistry in Citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescence transient. *Tree Physiol.* 28, 1863-1871.
- Jiang, H.-X., Tang, N., Zheng, J.-G., Li, Y., Chen, L.-S., 2009. Phosphorus alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings. *Physiol. Plant.* 137, 298-311.
- Kochian, L.V., Piñeros, M.A., Liu, J., Magalhaes, J.V., 2015. Plant adaptation to acid soil: the molecular basis for crop aluminium resistance. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 66, 571-598.
- Konrad, M.L.F., Silva, J.A.B., Furlani, P.R., Machado, E.C., 2005. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia* 64, 339-347.

- Kopittke, P.M., Blamey, F.P.C., Menzies, N.W., 2008. Toxicities of Al, Cu, and Zn include ruptures to rhizodermal and root cortical cells of cowpea. *Plant Soil* 303, 217–227.
- Kopittke, P.M., Moore, K.L., Lombi, E., Gianoncelli, A., Ferguson, B.J., Blamey, F.P.C., Menzies, N.W., Nicholson, T.M., McKenna, B.A., Wang, P., Gresshoff, P.M., Kourousias, G., Webb, R.I., Green, K., Tollenaere, A., 2015 Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. *Plant Physiol* 167, 1402-1411.
- Lange, O.L., Lösch, R., Schultze, E.D., Kappen, L., 1971. Responses of stomata to changes in humidity. *Planta* 100, 76–86.
- Ma, J.F., Shen, R.F., Nagao, S., Tanimoto, E., 2004. Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. *Plant Cell Physiol.* 45, 583–589.
- Magalhães Filho, J.R., Amaral, L.R., Machado, D.F.S.P., Medina, C.L., Machado, E.C., 2008. Deficiência hídrica: trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira ‘Valência’ sobre dois tipos de porta-enxerto. *Bragantia* 67, 75-82.
- Mott, K.A., Peak, D., 2013. Testing a vapour-phase model of stomatal responses to humidity. *Plant, Cell Environ.* 36, 936–944.
- McAdam, S.A.M., Brodribb, T.J., 2015. The evolution of mechanisms driving the stomatal response to vapour pressure deficit. *Plant Physiol.* 167, 833–843.
- Pereira, W.E., Siqueira, D.L., Martinez, C.A., Puiatti, M., 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *J. Plant Physiol.* 157, 513-520.
- Santos, C.H.S., Filho, H.G., Rodrigues, J.D., Pinho, S.Z., 1999. Níveis de alumínio e acúmulo de macronutrientes em porta-enxertos cítricos em cultivo hidropônico. *Sci. Agric.* 56, 1165-1175.
- Samac, D.A., Tesfaye, M., 2003. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 75, 189-207.

- Schulze, E.D., 1986. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37, 247–274.
- Vitarello, V.A., Capaldi, F.R., Stefanuto, V.A., 2005. Recent advances in aluminium toxicity and resistance in higher plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 129–143
- von Uexküll, H.R., Mutert, E., 1995. Global extent, development and economic impact of acid soils. In: Date, R.A. (Ed.), *Plant Soil Interactions at Low pH*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 5–19.