

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 31/03/2025.

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

**EFEITOS DIRETOS DO ALUMÍNIO EM FOLHAS DE PLANTAS SENSÍVEIS,
MANUTENÇÃO DA HIDRATAÇÃO FOLIAR EM PLANTAS TOLERANTES E
PAPEL DO ALUMÍNIO NAS RAÍZES DE PLANTAS ACUMULADORAS**

BRENDA MISTRAL DE OLIVEIRA CARVALHO

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

**EFEITOS DIRETOS DO ALUMÍNIO EM FOLHAS DE PLANTAS SENSÍVEIS,
MANUTENÇÃO DA HIDRATAÇÃO FOLIAR EM PLANTAS TOLERANTES E
PAPEL DO ALUMÍNIO NAS RAÍZES DE PLANTAS ACUMULADORAS**

BRENDA MISTRAL DE OLIVEIRA CARVALHO

ORIENTADOR: PROF. DR. GUSTAVO HABERMANN

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

C331e

Carvalho, Brenda Mistral de Oliveira

Efeitos diretos do alumínio em folhas de plantas sensíveis, manutenção da hidratação foliar em plantas tolerantes e papel do alumínio nas raízes de plantas acumuladoras / Brenda Mistral de Oliveira Carvalho. -- Rio Claro, 2023

97 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Gustavo Habermann

1. Al³⁺. 2. Absorção foliar de Al. 3. Transporte de Al. 4. Prolina. 5. Auxina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Efeitos diretos do alumínio em folhas de plantas sensíveis, manutenção da hidratação foliar em plantas tolerantes e papel do alumínio nas raízes de plantas acumuladoras"

AUTORA: BRENDA MISTRAL DE OLIVEIRA CARVALHO BITTENCOURT

ORIENTADOR: GUSTAVO HABERMANN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), área: Biologia Vegetal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUSTAVO HABERMANN (Participação Virtual)
Departamento de Biodiversidade / Instituto de Biociências de Rio Claro Unesp

Prof. Dr. JOSÉ LAVRES JUNIOR (Participação Virtual)
Laboratório de Isótopos Estáveis / Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP

Profª. Drª. CARLA MARIA ALEXANDRE PINHEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Vida / Universidade Nova Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia

Prof. Dr. DAVI RODRIGO ROSSATTO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. MÁRCIO ROBERTO SOARES (Participação Virtual)
Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Rio Claro, 31 de março de 2023

*“Não queremos o que pensamos que queremos.
Queremos ser felizes. Nisto está a paz do desapego”.*

Autoria desconhecida

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Mistério, que me permite a Vida;

Agradeço à minha avó Ordalia, minha mãe Patricia, minha irmã Barbara, meus tios e tias, que, desde a infância, me ensinaram com palavras e exemplos que educação é o caminho para a emancipação do ser. Aos meus primos, em especial minha prima Carol por ser minha companheira acadêmica mesmo à distância. Agradeço ao meu pai Gilson pelo apoio e palavras de incentivo.

Sou profundamente grata ao meu orientador, Dr. Gustavo Habermann, por ser esse profissional excepcional e ter oferecido uma orientação de alta qualidade, direcionada às bases filosóficas da Ciência. Agradeço pela paciência e apoio nos desafios e por tantas vezes ter me lembrado de acreditar. Se existe alguém mais ético e coerente, eu desconheço.

Agradeço aos meus amigos que conheci em Rio Claro por essa rede de apoio que faz com que me sinta sempre amparada, em especial à Anna, Giselle, Laura, Lorena, Marina e Olívia. Às amigas de longa data, Daniella, Julia e Ingrid. E aos amigos que se aproximaram ao longo da jornada em momentos cruciais, Bruno, Gabi, Igor, Michelle, bem como os colegas de laboratório Luá, Matheus e Juliana.

Estendo os agradecimentos ao Pierre pela parceria em parte dessa jornada e por todos os aprendizados obtidos.

Ao Dr. Ivano Brunner, por ter me recebido em seu laboratório, no período de doutorado sanduíche no Swiss Federal Research Institute WSL.

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

À Universidade Estadual Paulista pela infraestrutura e por oferecer o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), contribuindo para a formação de especialistas em nosso país. Estendo o agradecimento à Fapesp e Capes por acreditar e apoiar o avanço científico através do apoio financeiro à pesquisa no Brasil.

O presente trabalho foi realizado com apoio dos processos nº 2018/15359-8 e 2021/12462-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - código de financiamento 001.

RESUMO

O primeiro sintoma de toxicidade ao alumínio (Al) é a inibição do crescimento radicular, que pode reduzir o crescimento da parte aérea, a hidratação foliar e a performance fotossintética. A maior parte do Al absorvido é retido no sistema radicular. Desta forma, não se sabe se os efeitos do Al na parte aérea são uma consequência da raiz atrofiada ou um efeito direto da pequena porção de Al que chega no mesofilo. Por outro lado, algumas plantas crescem na presença de altas concentrações de Al sem apresentar sintomas. Essas plantas tolerantes são divididas em acumuladoras e não acumuladoras de Al, e aquelas armazenam mais de 1000 mg Al por kg de folhas secas. Alguns mecanismos de tolerância são bem descritos na literatura, mas ainda não está claro como essas plantas mantêm a hidratação foliar quando expostas ao Al. Prolina, um aminoácido osmoprotetor, reduz o potencial osmótico ($\Psi\pi$) e melhora a absorção de água em plantas expostas à seca. O acúmulo de prolina já foi evidenciado em plantas expostas ao Al, mas somente em espécies sensíveis, e a hidratação foliar não foi avaliada. Curiosamente, algumas espécies acumuladoras apresentam aumento do crescimento das raízes quando expostas ao Al. Embora o Al altere a concentração de auxinas nas raízes de plantas sensíveis, essa associação em plantas acumuladoras tem recebido pouca atenção. Dentro desse contexto, tivemos como objetivo testar as seguintes hipóteses: (H1) o Al reduz a performance fotossintética quando aplicado diretamente nas folhas de plantas sensíveis, (H2) o acúmulo de prolina está associado à manutenção da hidratação foliar em plantas tolerantes e (H3) o acúmulo de auxina está envolvido no aumento do crescimento de raízes induzido pelo Al em plantas acumuladoras. Para testar H1, cultivamos *Citrus x limonia* (sensível ao Al) em solução nutritiva 'sem' Al e expusemos a parte aérea a concentrações crescentes de Al por injeção no pecíolo (24 h) ou pulverização (60 dias). A performance fotossintética diminuiu e o crescimento das raízes não foi afetado em ambos os experimentos e o crescimento da parte aérea diminuiu no experimento de longo prazo. Desta forma, confirmamos que o Al reduz a performance fotossintética quando aplicado diretamente nas folhas. Para testar H2, cultivamos *Pinus sylvestris* (tolerante ao Al) em solução nutritiva com concentrações crescentes de Al por 45 dias. Como esperado, o Al não interferiu na performance fotossintética e no conteúdo relativo de água (CRA), mas a concentração de prolina aumentou nas raízes e novos ramos, e o potencial da água diminuiu, entre 7 e 14 dias. Esses resultados indicam que o acúmulo de prolina pode estar envolvido no ajuste osmótico de *P. sylvestris* expostas ao Al. Para testar H3, cultivamos *Camellia sinensis* (acumuladora de Al) em solução nutritiva contendo concentrações crescentes de Al e medimos auxina (AIA), dados biométricos, área de superfície de raiz e CRA ao longo

de 90 dias. Evidenciamos que o acúmulo de AIA nas raízes está associado ao aumento do crescimento radicular induzido pelo Al, levando à maior área de absorção das raízes e melhor hidratação das folhas.

Palavras-chave: Al³⁺, absorção foliar de Al, auxina, prolina, transporte de Al.

ABSTRACT

The first symptom of aluminum (Al) toxicity is the root growth inhibition, and may reduce shoot growth, leaf hydration and photosynthetic performance. Most of the absorbed Al is retained in root system. Thus, it is unknown if Al effects in aboveground organs is a consequence of the stunted root or a direct effect of the minor Al concentration reaching the mesophyll. On the other hand, some plants grow in the presence of high Al concentrations showing no symptoms. These tolerant plants are divided into Al-accumulating and non-accumulating species, and the latter stores more than 1000 mg Al per kg of dry leaves. Some mechanisms of tolerance are well described in the literature, but it is still not clear how these plants maintain leaf hydration when exposed to Al. Proline, an osmoprotectant amino acid, reduces osmotic potential ($\Psi\pi$) and improves water uptake in plant exposed to drought. Proline accumulation was already observed in plants exposed to Al, but only in Al-sensitive ones, and leaf hydration was not measured. Interestingly, some Al-accumulators show increased root growth when exposed to Al. Although Al alters root auxin concentration in sensitive plants, this association in Al-accumulating plants has received less attention. Within this context, we aimed to test the following hypotheses: (H1) Al reduces photosynthetic performance when applied directly on leaves of Al-sensitive plants, (H2) proline accumulation is associated with the maintenance of leaf hydration in Al-tolerant plants, and (H3) auxin accumulation is involved in Al-induced increased root growth in Al-accumulating plants. To test H1, we grew *Citrus x limonia* (Al-sensitive) in nutrient solution ‘without’ Al and exposed the shoots to increasing Al concentrations through injection in the petiole (24 h) and spraying (60 days). Photosynthetic performance decreased and root growth was not affected in both experiments, and shoot growth decreased in the long-term experiment. Therefore, we confirmed that Al reduces photosynthetic performance when applied directly on leaves. To test H2, we grew *Pinus sylvestris* (Al-tolerant) in nutrient solution with increasing Al concentrations for 45 days. As expected, Al did not interfere in photosynthetic performance and RWC, but proline concentration increased in roots and new shoots, while water potential decreased between seven and 14 days. These results indicate that proline accumulation may be involved in osmotic adjustment of *P. sylvestris* exposed to Al. To test H3, we grew *Camellia sinensis* (Al-accumulator) in nutrient solution with increasing Al concentrations and measured auxin (IAA), biometric data, root surface area, and RWC throughout 90 days. We evidenced that IAA accumulation in roots is associated to Al-induced root growth, which leads to increased root surface area and improved leaf hydration.

Key words: Al³⁺, Al foliar absorption, Al transport, auxin, proline.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO I: Does aluminum impair photosynthetic performance when applied ‘directly’ on leaves?	20
Acknowledgements	20
Abstract	21
Introduction	22
Material and Methods	24
<i>Plant material and experimental conditions</i>	24
<i>Aluminum injection (short-term study)</i>	25
<i>Al sprayed directly on leaves (long-term study)</i>	26
<i>Experimental design</i>	26
<i>Photosynthetic parameters</i>	28
<i>Relative water content</i>	28
<i>Biometric data and biomass</i>	29
<i>Al concentration in plant organs</i>	29
<i>Data analyses</i>	29
Results	30
<i>Injection of Al solutions</i>	30
<i>Spraying of Al solutions</i>	30
Discussion	32
Conclusion	35
References	36
Figures	39
Supplementary material	49
CAPÍTULO II: Is proline involved in the aluminum tolerance of <i>Pinus sylvestris</i>?	52
Acknowledgements	52
Abstract	53
Introduction	54
Material and Methods	56
<i>Plant material and experimental conditions</i>	56
<i>Experimental design</i>	57
<i>Proline</i>	57
<i>Abscisic acid (ABA)</i>	58
<i>Plant hydration parameters</i>	58
<i>Photosynthetic parameters</i>	59
<i>Biometric data and biomass</i>	60
<i>Aluminum in organs</i>	60
<i>Data analysis</i>	60
Results and discussion	60
References	63
Figures	67
Supplementary material	71
CAPÍTULO III: Is aluminum-induced plant growth of <i>Camellia sinensis</i> associated with root auxin accumulation?	76

Acknowledgments	76
Abstract	77
Introduction	78
Material and Methods	79
<i>Plant material and experimental conditions</i>	79
<i>Experimental design</i>	80
<i>Indole-acetic acid quantification</i>	81
<i>Relative leaf water content</i>	82
<i>Biometric data and biomass</i>	82
<i>Al concentration in plant organs</i>	82
<i>Data analyses</i>	83
Results	83
Discussion	84
Conclusion	87
References	88
Figures	90
Supplementary material	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS	97

INTRODUÇÃO

Solos ácidos ($\text{pH} < 5,0$) representam aproximadamente 40% dos solos livres de gelo do globo (vonUexküll and Mutert 1995; Brunner and Sperisen 2013). Nesses solos, minerais contendo Al (como óxidos e aluminossilicatos) são solubilizados para a forma de cátion trivalente, Al^{3+} , que é tóxica para a maioria das espécies (Kochian et al. 1995; Vitorello et al. 2005; Singh et al. 2017; Hajiboland et al. 2022). Desta forma, a toxicidade ao Al em solos ácidos é um dos principais fatores limitantes à produtividade vegetal (Kochian et al. 2004).

O primeiro e mais evidente sintoma de toxicidade do Al é a diminuição do crescimento radicular (Horst et al. 2010; Sun et al. 2010; Silva et al. 2019), que pode ocorrer em questão de horas (Kopittke et al. 2008). Há evidências de que a primeira lesão do Al em plantas é sua ligação às matrizes pécticas da parede celular das células das raízes (Kopittke et al. 2015), inibindo a divisão e o alongamento celular nessa região (Sivaguru & Horst 1998; Kochian et al. 2004; Doncheva et al. 2005). Outro fator que pode estar relacionado a esse sintoma é a maior biossíntese de etileno (Et) induzida por Al, atuando como um sinal para modificar a distribuição simétrica de auxina em raízes (Sun et al., 2010). Além disso, essa diminuição do crescimento radicular induzida pelo Al pode ser causada por concentrações radiculares supra-ótimas de auxina, como ocorre em ápices radiculares de *Arabidopsis* (Yang et al. 2014) e em *Citrus limonia* (Silva et al. 2019).

Além dos efeitos negativos no sistema radicular, o Al pode diminuir o crescimento da parte aérea, reduzindo o potencial da água (Ψ_w) e o conteúdo relativo de água na folha (CRA) (Foy et al. 1978; Delhaize and Ryan, 1995; Banhos et al. 2016; Silva et al. 2022). O Al reduz a abertura estomática, prejudicando as trocas gasosas, e diminui as reações fotoquímicas, como observado em *Citrus* spp. (Pereira et al. 2000; Jiang et al. 2008, 2009; Yang et al. 2011; Banhos et al., 2016; Silva et al. 2018; 2022), cafeeiro (*Coffea arabica*) (Konrad et al., 2005), plantas de milho (*Zea mays*) (Lidon et al., 1999) e cevada (*Secale cereale*) (Silva et al., 2012). Em plantas sensíveis, cerca de 90% do Al fica retido no sistema radicular (Kochian et al. 2004; Jiang et al. 2008; Banhos et al. 2016; Silva et al. 2018), e ainda não está claro se os efeitos do Al na parte aérea são consequência da inibição do crescimento radicular (diminuição da absorção de água e nutrientes) ou da pequena concentração de Al que chega no mesófilo. A baixa hidratação foliar evidenciada em plantas sensíveis ao Al levam à comparação dos efeitos de toxicidade do Al com os efeitos da seca (Yang et al. 2013). Considerando que as plantas dependem da divisão e expansão celular para crescerem, e que a água nas células (pressão de turgor — Ψ_p) é essencial nesse processo (Schopfer 2006), é intuitivo associar a inibição do crescimento da parte

aérea como uma consequência da inibição do crescimento radicular causada pelo Al, como revisado por [Ma et al. \(2005\)](#), [Vitorello et al. \(2005\)](#), [Panda et al. \(2009\)](#), and [Yang et al. \(2013\)](#). No entanto, até onde sabemos, os efeitos diretos do Al na parte aérea nunca foram testados.

Embora a fitotoxicidade do Al seja um fator limitante para a produtividade das culturas em locais com solos ácidos, algumas espécies crescem nessas regiões com saturação de Al (m%) maior que 50% sem apresentar danos estruturais e fisiológicos aos tecidos ([Brunner and Sperisen 2013](#)). Espécies que toleram o Al abrangem as não acumuladoras e as acumuladoras de Al. São consideradas acumuladoras de Al quando armazenam mais de 1000 mg Al por kg de folhas secas ([Chenery, 1948](#); [Jansen et al., 2002](#)), incluindo espécies pertencentes a cerca de 45 famílias (sendo Melastomataceae, Rubiaceae, Symplocaceae, Theaceae e Vochysiaceae exemplos das mais estudadas) ([Matsumoto et al. 1976](#); [Haridasan et al. 1982](#); [Jansen et al. 2002](#); [Brunner and Sperisen 2013](#); [Souza et al. 2015](#); [Malta et al. 2016](#)). Essas espécies se utilizam de mecanismos de tolerância interna para armazenar Al nas folhas, transportando o Al na forma de complexos com ácidos orgânicos e isolando-o em locais metabolicamente inativos (como os vacúolos) ([Morita et al. 2008](#); [Brunner and Sperisen 2013](#)). Por outro lado, as espécies não-acumuladoras, em geral, detêm do mecanismo de exclusão, ou seja, exsudam substâncias orgânicas pelas raízes, formando compostos não tóxicos na rizosfera ([Ryan et al. 2011](#); [Brunner and Sperisen 2013](#)). Nenhuma evidência de baixa hidratação foliar é conhecida nessas espécies tolerantes quando expostas ao Al.

Os motivos pelos quais plantas tolerantes ao Al mantem a hidratação foliar ainda não são elucidados. O aumento da concentração do aminoácido osmorregulador prolina ([Ashraf and Foolad, 2007](#); [Ghosh et al. 2022](#)) é evidenciado em plantas sob vários estresses osmóticos, como seca e salinidade ([Yoshiba et al. 1995](#); [Parre et al. 2007](#); [Sancho Knapik et al. 2017](#); [Lopez-Delacalle et al. 2021](#)). No estresse hídrico, por exemplo, o aumento de prolina pode reduzir o potencial osmótico ($\Psi\pi$), melhorando a absorção de água ([Verbruggen and Hermans 2008](#); [Vilagrosa et al. 2010](#); [Sancho-Knapik et al. 2017](#); [Ghosh et al. 2022](#)). O acúmulo de prolina já foi evidenciado em plantas sob efeito do Al, porém apenas em espécies sensíveis ao Al ([Silva and Matos 2016](#); [Khan et al. 2000](#)) e a hidratação foliar não foi avaliada. Desta forma, a relação do acúmulo de prolina e a hidratação das folhas de plantas expostas ao Al merece investigação, principalmente em espécies tolerantes ao Al.

Dentre as plantas tolerantes ao Al, existem algumas espécies acumuladoras que se beneficiam deste elemento ([Haridasan et al. 1988](#); [Souza et al. 2017](#); [Schmitt et al. 2016](#)). Curiosamente, as acumuladoras de Al *Vochysia tucanorum* (Vochysiaceae) ([Bressan et al.](#)

2021) e *Camellia sinensis* (Theaceae) (Sun et al. 2020) parecem sucumbir na ausência de Al, indicando que são dependentes deste elemento para sobreviver. Por exemplo, o crescimento das raízes de *C. sinensis* é totalmente inibido na ausência de Al, e concentrações moderadas (de 300 a 400 μM Al) induz o melhor desenvolvimento dessas plantas (Hajiboland et al. 2013; Sun et al. 2020). De alguma forma, o Al parece manter a integridade do DNA das células das raízes nesta espécie (Sun et al. 2020), mas o fator de crescimento no qual o Al está envolvido em plantas dependentes do Al permanece obscuro.

De forma geral, o crescimento de raízes é regulado por hormônios como auxina e etileno (Kang et al. 1971; Swarup et al. 2007). Embora se saiba que o Al altera a concentração de auxina e etileno nas raízes de plantas sensíveis, levando à inibição do crescimento (Sun et al. 2010; Silva et al. 2019), essa associação em plantas acumuladoras de Al tem recebido pouca atenção. Um estudo de curto prazo mostrou que o crescimento de raízes induzido pelo Al poderia estar associado ao acúmulo de ácido índol-acético (AIA) nos ápices radiculares de plântulas de *C. sinensis* (Gao et al. 2022). Além deste único estudo, que foi realizado por sete dias e com plântulas de uma semana de idade, a associação do crescimento de raízes induzido pelo Al com a concentração de AIA permanece não explorada em plantas acumuladoras totalmente desenvolvidas, a longo prazo.

Diante do exposto, é possível apontar as seguintes lacunas nessa área de investigação: (1) se os efeitos do Al em plantas sensíveis são apenas consequências da inibição do crescimento radicular, (2) de qual maneira plantas tolerantes ao Al mantém a hidratação foliar durante a exposição ao Al e (3) se o crescimento induzido pelo Al em plantas dependentes do Al é intermediado por AIA a longo prazo. Dentro desse contexto, elegemos *Citrus x limonia*, uma espécie sensível, para testar se o Al causa efeitos diretos na performance fotossintética e crescimento da parte aérea. Para isso, cultivamos essas plantas em solução nutritiva ‘sem’ Al e injetamos solução contendo concentrações crescentes de Al no pecíolo das folhas, com a ajuda de uma agulha de seringa. Em um segundo experimento, cultivamos essa espécie, também ‘sem’ Al na solução nutritiva, e pulverizamos, diariamente ao longo de 60 dias, concentrações crescentes de Al na parte aérea. Em ambos os experimentos, foram avaliadas a performance fotossintética, CRA, dados biométricos, biomassa e concentração de Al nos órgãos. Esse estudo está descrito no primeiro capítulo da presente Tese. No segundo capítulo, relatamos o estudo realizado no período de doutorado sanduíche pela BEPE (FAPESP) no Swiss Federal Research Institute WSL (Birmensdorf, Suíça) no qual cultivamos *Pinus sylvestris*, uma espécie tolerante ao Al, e expusemos seu sistema radicular a solução nutritiva contendo concentrações crescentes

de Al para verificar se a manutenção da hidratação foliar e performance fotossintética esperada para essa espécie está associada a um aumento da concentração de prolina nos tecidos, ao longo de 45 dias. No terceiro e último capítulo, é relatado o estudo no qual cultivamos *Camellia sinensis* em solução nutritiva contendo concentrações crescentes de Al e medimos a concentração de AIA, dados biométricos, biomassa de órgãos, área de superfície de raiz e conteúdo relativo de água ao longo de 90 dias. Desta forma, respondemos se o acúmulo de auxina nas raízes, ao longo do tempo, está associado ao aumento do crescimento radicular induzido pelo Al esperado em *C. sinensis*.

REFERÊNCIAS

- Ashraf M, Foolad MF (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ Exp Bot* 59(2): 206-216
- Banhos OFAA, Carvalho BMO, Veiga EB, Bressan ACG, Tanaka FAO, 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
- Bressan ACG, Carvalho Bittencourt BMO, Silva GS, Habermann G (2021) Could the absence of aluminum (Al) impair the development of an Al-accumulating woody species from Brazilian savanna? *Theor Exp Plant Physiol* 33: 281–292
- Brunner I, Sperisen C (2013) Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Frontiers in Plant Science* 4: 1-12
- Chenery EM (1948) Aluminum in plants and its relation to plant pigments. *Annals of Botany* 12: 121–136
- Delhaize E, Ryan PR (1995) Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol* 107:315–321
- Foy CD, Chaney RL, White MC (1978) The physiology of metal toxicity in plants. *Ann Rev Plant Physiol* 29:511–566
- Gao Y, Wang M, Shi Y, Yang L, Hu J, Fan K, Shi Y (2022) IAA Accumulation Promotes the Root Growth of Tea Plants under Aluminum. *Agronomy* 12: 1110
- Ghosh UK, Islam MN, Siddiqui MN, Cao X, Khan MAR (2022) Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biol* 24: 227-239
- Hajiboland R, Panda CK, Lastochkina O, Gavassi MA, Habermann G, Pereira JF (2022) Aluminum toxicity in plants: Present and future. *J Plant Growth Regul* <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10866-0>
- Hajiboland R, Rad SB, Barceló J, Poschenrieder C (2013) Mechanisms of aluminum-induced growth stimulation in tea (*Camellia sinensis*). *J. Plant Nutr Soil Sci* 176: 616–625
- Haridasan M (1988) Performance of *Miconia albicans* (SW.) Triana, an aluminum accumulating species, in acidic and calcareous soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 19: 1091–1103
- Horst WJ, 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. *Annals of Botany* 106: 185-197
- Jansen S, Watanabe T, Smets E (2002) Aluminium accumulation in leaves of 127 species in Melastomataceae, with comments on the Order Myrtales. *Annals of Botany* 90: 53–64
- Jiang HX, Chen LS, Zheng, JG, Han S, Tang N, Smith BR (2008) Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in *Citrus* leaves assessed by the chlorophyll a fluorescence transient. *Tree Physiol* 28:1863–1871
- Jiang, HX, Tang N, Zheng JG, Li Y, Chen LS (2009) Phosphorous alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings. *Physiolia Plantarum* 137: 298–311

- Kang BG, Newcomb W, Burg SP (1971) Mechanism of auxin-induced ethylene production. *Plant Physiol* 47: 504-509.
- Khan AA, McNeilly T, Collins JC (2000) Accumulation of amino acids, proline, and carbohydrates in response to aluminum and manganese stress in maize. *J Plant Nut* 23:9: 1303-1314
- Kochian LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review of Plant Biology* 46: 237–260
- Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA (2004) How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminium tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 55: 459-493
- Konrad MLF, Silva JAB, Furlani PR, Machado EC (2005) Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia* 64: 339-347
- Lidon FC, Barreiro MG, Ramalho JC, Lauriano JA (1999) Effects of aluminum toxicity on nutrient accumulation in maize shoots: implications on photosynthesis. *Journal of Plant Nutrition* 22: 397-416
- Lopez-Delacalle M, Silva CJ, Mestre TC, Martinez V, Blanco-Ulate B, Rivero RM (2021) Synchronization of proline, ascorbate and oxidative stress pathways under the combination of salinity and heat in tomato plants. *Environ Exp Bot* 183: 104351
- Ma JF (2005) Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. *Crit Rev Plant Sci* 24:267–281
- Malta PG, Silva AS, Ribeiro C, Campos NV, Azevedo AA (2016) *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant and Soil* 408: 369-384
- Morita A, Yanagisawa O, Takatsu S, Maeda S, Hiradate S (2008) Mechanism for the detoxification of aluminum in roots of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Phytochemistry* 69(1): 147-153
- Panda SK, Baluska F, Matsumoto H (2009) Aluminum stress signaling in plants. *Plant Signal Behav* 4:592–59
- Parre E, Ghars MA, Leprince AS, Thiery L, Lefebvre D, Bordenave M, Richard L, Mazars C, Abdelly C, Savoure A (2007) Calcium signaling via phospholipase C is essential for proline accumulation upon ionic but not nonionic hyperosmotic stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 144: 503–512
- Pereira WE, Siqueira DL, Martinez CA, Puiatti M (2000) Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four *Citrus* rootstocks under aluminium stress. *J Plant Physiol* 157:513–520
- Sancho-Knapik D, Sanz MA, Peguero-Pina JJ, Niinemets U, Gil-Pelegrín E (2017) Changes of secondary metabolites in *Pinus sylvestris* L. needles under increasing soil water deficit. *Ann For Sci* 74: 24
- Schmitt M, Watanabe T, Jansen S (2016) The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB Plants* 8: plw065
- Schopfer P (2006) Biomechanics of plant growth. *Am J Bot* 93:1415–1425
- Silva CMS, Cavalheiro MF, Bressan ACG, Carvalho BMO, Banhos OFAA, Purgatto E, Harakava R, Tanaka FAO, Habermann G (2019) Aluminum-induced high IAA concentration may explain the Al susceptibility in *Citrus limonia*. *Plant Growth Regul* 87: 123-137

- Silva GS, Gavassi MA, Carvalho BMO, Habermann G (2022) High abscisic acid and low root hydraulic conductivity may explain low leaf hydration in ‘Mandarin’ lime exposed to aluminum. *Tree Physiol* doi: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac130>
- Silva GS, Gavassi MA, Nogueira MA, Habermann G (2018) Aluminum prevents stomatal conductance from responding to vapor pressure deficit in *Citrus limonia*. *Environ Exp Bot* 155:662–671
- Silva P and Matos M (2016) Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicol Environ Saf* 131: 151–156
- Silva S, Pinto G, Dias MC, Correia CM, Moutinho-Pereira J, Pinto-Carnide O, Santos C (2012) Aluminium long-term stress differently affects photosynthesis in rye genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry* 54: 105-112
- Singh S, Tripathi DK, Singh S, Sharma S, Dubey NK, Chauhan DK, & Vaculík M (2017) Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. *Environmental and experimental botany* 137: 177-193
- Souza MC, Franco A, Haridasan M, Rossatto DR, de Araújo JF, Morellato LPC, Habermann G (2015) The length of the dry season may be associated with leaf scleromorphism in cerrado plants. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 87: 1691–1699
- Souza MC, Habermann G, do Amaral CL, Rosa AL, Pinheiro MHO, Da Costa FB (2017) *Vochysia tucanorum* Mart.: an aluminum-accumulating species evidencing calcifuge behavior. *Plant Soil* 419: 377-389
- Sun L, Zhang M, Liu X, Mao Q, Shi C, Kochian LV, Liao H (2020) Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*). *J Integr Plant Biol* 62: 984–997
- Sun P, Tian QY, Chen J, Zhang WH (2010) Aluminium-induced inhibition of root elongation in *Arabidopsis* is mediated by ethylene and auxin. *Journal of Experimental Botany* 61: 347-356
- Swarup R, Perry P, Hagenbeek D, Straeten DVD, Beemster GTS, Sandberg G, Bhalerao R, Ljung K, Bennett MJ (2007) Ethylene upregulates auxin biosynthesis in *Arabidopsis* seedlings to enhance inhibition of root cell elongation. *Plant Cell* 19: 2186-2196
- Verbruggen N, Hermans C (2008) Proline accumulation in plants: a review. *J Amino Acids* 35: 753–759
- Vilagrosa A, Morales F, Abadía A, Bellot J, Cochard H, Gil-Pelegrin E (2010) Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and leaf level processes in two Mediterranean drought-resistant species. *Environ Exp Bot* 69: 233-242
- Vitorello VA, Capaldi FR, Stefanuto VA (2005) Recent advances in aluminium toxicity and resistance in higher plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 129–143
- von Uexküll HR, Mutert E (1995) Global extent, development and economic impact of acid soils. In: Date, RA (Ed.), *Plant Soil Interactions at Low pH*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 5–19
- Yang LT, Jiang HX, Tang N, Chen LS (2011) Mechanisms of aluminum-tolerance in two species of citrus: Secretion of organic acid anions and immobilization of aluminum by phosphorus in roots. *Plant Science* 180: 521-530

Yang Z, Geng X, He C, Zhang F, Wang R, Horst WJ, Ding Z (2014) TAA1-Regulated Local Auxin Biosynthesis in the Root-Apex Transition Zone Mediates the Aluminum-Induced Inhibition of Root Growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 26: 2889–2904

Yang Z-B, Rao IM, Horst WJ (2013) Interaction of aluminium and drought stress on root growth and crop yield on acid soils. *Plant Soil* 372: 3-25

Yoshida Y, Kiyosue T, Katagiri T, Ueda H, Mizoguchi T, Yamaguchi-Shinozaki K, Wada K, Harada Y, Shinozaki K (1995) Correlation between the induction of a gene for D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *Plant J* 7:751–760

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Evidenciamos que o Al causa danos à performance fotossintética quando aplicado diretamente nas folhas de plantas sensíveis, indicando que os efeitos de toxicidade ao Al nessas plantas podem ocorrer mesmo quando as raízes não são expostas a esse elemento. Essa conclusão se opõe à sugestão, até então nunca testada, de que os efeitos da toxicidade ao Al observados na parte aérea de plantas sensíveis são apenas consequência dos efeitos no sistema radicular.

Além disso, mostramos que o acúmulo de prolina pode estar envolvido na manutenção da hidratação foliar de plantas tolerantes ao Al. O papel da prolina como osmoprotetor já havia sido sugerido para plantas sob estresse por seca e salinidade, mas nunca havia sido testado em plantas tolerantes expostas ao Al.

Por fim, evidenciamos que o crescimento de raízes induzido pelo Al em plantas acumuladoras é intermediado pelo acúmulo de auxina ao longo de três meses. Embora a associação entre o acúmulo de auxina e o crescimento de raízes induzido pelo Al tenha sido proposta por um estudo anterior, essa única investigação foi feita com plântulas (2 cm de altura) ao longo de apenas sete dias.

Como confirmado no presente estudo, o Al apresenta uma conjuntura de efeitos completamente diferente em espécies sensíveis, tolerantes e acumuladoras. A presente Tese mostra avanços científicos nas três frentes de investigação e, como ciência de base, poderá compor o conhecimento necessário para avanços futuros no melhoramento genético por meio de ferramentas biotecnológicas que visam implementar os mecanismos observados em plantas tolerantes e acumuladoras de Al nas plantas sensíveis que são comercialmente importantes.