



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu/Rio Claro
Seção Técnica de Pós-Graduação



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL (INTERUNIDADES)

**Distribuição de alumínio durante o desenvolvimento inicial de
Vochysia tucanorum: Efeitos na germinação e crescimento.**

JULIANA SARTORI RODRIGUES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências do câmpus de Rio Claro.

**RIO CLARO – SP
2025**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu/Rio Claro
Seção Técnica de Pós-Graduação



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL (INTERUNIDADES)

**Distribuição de alumínio durante o desenvolvimento inicial de
Vochysia tucanorum: Efeitos na germinação e crescimento.**

JULIANA SARTORI RODRIGUES

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Habermann

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências do câmpus de Rio Claro.

**RIO CLARO – SP
2025**

R696d Rodrigues, Juliana Sartori
Distribuição de alumínio durante o desenvolvimento
inicial de *Vochysia tucanorum*: Efeitos na germinação e
crescimento. / Juliana Sartori Rodrigues. -- Rio Claro,
2025
29 p. : tabs., fotos

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

1. Al³⁺. 2. Performance germinativa. 3. Vochysiaceae.
4. Desenvolvimento Vegetal. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: **"Distribuição de alumínio durante o desenvolvimento inicial de *Vochysia tucanorum*: Efeitos na germinação e crescimento."**

AUTORA: JULIANA SARTORI RODRIGUES

ORIENTADOR: GUSTAVO HABERMANN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biologia Vegetal, pela Comissão Examinadora:

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



Documento assinado digitalmente

GUSTAVO HABERMANN
Data: 05/02/2025 17:02:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a BRENDA MISTRAL DE OLIVEIRA CARVALHO (Participação Virtual)
Pesquisadora Pós Doutoranda do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA / Universidade de São Paulo - USP/SP



Documento assinado digitalmente

BRENDA MISTRAL DE OLIVEIRA CARVALHO
Data: 05/02/2025 17:38:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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



Documento assinado digitalmente

DAVI RODRIGO ROSSATTO
Data: 05/02/2025 18:21:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rio Claro, 05 de fevereiro de 2025

Agradecimentos

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida (130574/2023-6) e da bolsa de produtividade em pesquisa do orientador do projeto (CNPq 307431/2020-7). Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (Interunidades) pelos recursos financeiros utilizados fornecidos pela verba PROEX. E ao Laboratório de Nutrição de Plantas do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) pelo auxílio e prestação de serviços.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Habermann pela companhia nesses dois anos intensos de projeto, pela orientação dentro e fora de sala de aula, por cada conversa, incentivo, conselho e principalmente, por todos os momentos que compartilhamos juntos durante todo esse tempo, você me faz acreditar na ciência e em mim mesma cada dia mais.

Aos meus colegas de laboratório, todos que partilharam comigo as alegrias e tristezas desses dois anos, obrigada pelos ensinamentos, a ajuda, as conversas, risadas e cafezinhos partilhados, sem vocês eu não teria conseguido.

À minha família de coração; Catarina, Talita, Natália, Mário, Lucas, Graveto, Roberta, Pelúcia, Comuna e Malu. Vocês são o motivo pelo qual eu continuo aqui, e sem vocês, eu realmente não seria nada, obrigada por permanecerem presentes na minha vida, espero um dia poder retribuir todo o carinho que vocês já me deram.

Ao meu namorado, Lourenço, por aceitar compartilhar a vida comigo e iluminar cada parte dela com seu jeito incrível e amável, pra sempre, te dou 100%.

À minha família, inclusive aqueles que infelizmente já se foram, saibam que eu carrego cada um de vocês em meu coração, vocês são parte de mim e nunca estaremos separados. Agradeço especialmente aos meus pais, Marcia e Osmar, por tudo, eu sou mais grata do que posso descrever aqui, amo muito vocês.

Resumo

O alumínio (Al) é encontrado em solos ácidos ($\text{pH} < 5$) na sua forma tóxica: Al^{3+} . Em plantas sensíveis ao Al, este pode inibir o crescimento radicular e o desenvolvimento como um todo, além de reduzir a biomassa aérea e causar menor desempenho fotossintético. Por outro lado, algumas espécies nativas do Cerrado mostram elevadas concentrações de Al em suas folhas sem desenvolver sintomas de toxicidade, chamadas espécies acumuladoras de Al. Na ausência de Al, essas espécies mostram clorose e abscisão foliar, menor condutância estomática, assimilação de CO_2 , biomassa radicular e necrose das raízes. Essas espécies também acumulam altas concentrações de Al em suas sementes, embora o papel deste elemento no processo germinativo e desenvolvimento inicial ainda seja pouco explorado. Neste trabalho, testamos a presença e ausência de Al na performance germinativa de sementes de *Vochysia tucanorum* (Vochysiaceae), espécie acumuladora de Al. Mas a presença de Al não causou alterações na porcentagem de germinação ou em outros parâmetros de germinação em relação à ausência de Al, talvez porque as sementes desta espécie mostram mais de 20.000 mg Al kg^{-1} de semente. Ainda, para testar a hipótese que o consumo desta reserva de Al da semente atinge um limite temporal, investigamos a distribuição de Al entre os órgãos ao longo do desenvolvimento inicial das plantas na presença e ausência de Al. O crescimento das plantas até os 60 dias foi semelhante, não se evidenciando influência do Al na biomassa ou biometria dos órgãos. A suplementação de Al causou maior concentração de Al apenas em alguns órgãos em certas épocas de avaliação. Até os 60 dias, o Al do embrião é transportado prioritariamente para as folhas (85-93%), em relação aos outros órgãos.

Palavras-chave: Al^{3+} , performance germinativa, Vochysiaceae, desenvolvimento vegetal.

Abstract

Aluminum (Al) is found in acidic soils ($\text{pH} < 5$) in its toxic form: Al^{3+} . In Al-sensitive plants, this element can inhibit root growth and plant development, in addition to reducing aerial biomass and causing lower photosynthetic performance. On the other hand, some native species of the Cerrado show high concentrations of Al in their leaves without exhibiting toxicity symptoms, known as Al-accumulating species. In the absence of Al, these species display chlorosis and leaf abscission, reduced stomatal conductance, CO_2 assimilation, root biomass, and root necrosis. These species also accumulate high concentrations of Al in their seeds, although the role of this element in the germination process and early development is still underexplored. In this study, we tested the presence and absence of Al on the germination performance of seeds of *Vochysia tucanorum* (Vochysiaceae), an Al-accumulating species. However, the presence of Al did not alter the germination percentage or other germination parameters compared to the absence of Al, possibly because the seeds of this species contain more than 20,000 mg Al kg^{-1} of seed. Additionally, to test the hypothesis that the consumption of this Al reserve from the seed reaches a temporal limit, we investigated the distribution of Al among the organs throughout the early development of the plants in the presence and absence of Al. The plant growth up to 60 days was similar, and no significant influence of Al was observed on biomass or organ biometrics. Al supplementation caused higher Al concentrations only in some organs at specific evaluation times. During early development, up to 60 days, the Al from the embryo is primarily transported to the leaves (85-93%) compared to other organs.

Keywords: Al^{3+} , germinative performance, Vochysiaceae, plant development.

SUMÁRIO

1. Introdução	6
2. Objetivo	8
3. Material e Métodos... ..	8
3.1. Material vegetal e condições experimentais... ..	8
3.2. Desenho experimental.....	9
3.3. Variáveis medidas... ..	10
3.4. Forma de análise dos resultados	12
4. Resultados	12
4.1. Estudo de performance germinativa	12
4.2. Estudo de desenvolvimento vegetal.....	15
5. Discussão	23
6. Conclusão.....	24
7. Referências Bibliográficas	25

1. Introdução

Na natureza, o alumínio (Al) é encontrado em diferentes formas químicas, dependendo do tipo de solo e seu pH (Haridasan, 2008). É considerado o terceiro elemento químico mais abundante na crosta terrestre (von Uexküll & Mutert., 1995). Em solos ácidos ($\text{pH} < 5$), que representam 30% dos solos das áreas livres de gelo do planeta, o Al é disponibilizado para as espécies em sua forma mais tóxica, Al^{3+} , que é capaz de reduzir o crescimento e desenvolvimento das plantas (Vitorello et al., 2005; Hajiboland et al., 2023).

Plantas sensíveis ao Al podem apresentar diversos sintomas de toxicidade. O principal deles é a inibição do crescimento radicular (Vitorello et al., 2005; Kopittke et al. 2008; Horst et al., 2010). Mas existem efeitos denominados “indiretos” (por não se manifestarem na raiz e sim na parte aérea), como a desidratação do mesofilo, redução da condutância estomática (g_s), das taxas de assimilação de CO_2 (A), de transpiração (E) e do potencial da água na folha (Ψ_w), levando à redução das trocas gasosas foliares, baixo desempenho fotoquímico e menor crescimento da parte aérea (Chen et al., 2005; Banhos et al., 2016; Kopittke et al., 2015; Silva et al. 2023).

Entretanto, algumas espécies possuem mecanismos adaptativos para superar a toxicidade ao Al, e são capazes de acumular em suas folhas mais de 1000 mg Al por kg de folha seca sem sofrer danos físicos ou fisiológicos, e quando atingem essa concentração foliar são denominadas acumuladoras de Al (Chenery, 1948; Jansen et al., 2002). Na vegetação do Cerrado na América do Sul, os solos são ácidos ($\text{pH} < 4,5$) e com alta saturação por Al ($\text{m\%} > 70\%$) (Haridasan, 1982; Bressan et al., 2016). Crescendo nesses solos, existem espécies acumuladoras de Al, como as da família Vochysiaceae (gêneros *Vochysia* e *Qualea*) (Haridasan, 1982; Malta et al., 2016; Nogueira et al., 2019). Algumas dessas espécies são consideradas dependentes de Al (Bressan et al., 2021; Silva et al., 2023). Entretanto, alguma possível função fisiológica que este elemento poderia desempenhar no crescimento e desenvolvimento dessas plantas ainda é desconhecida.

Nessas espécies, a falta de Al pode ser responsável por distúrbios que comprometem seu ciclo de vida. Clorose e abscisão foliar foram evidenciadas em *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae), espécie acumuladora de Al, crescendo em solos calcários sem Al (Haridasan, 1988), assim como em *V. tucanorum* (Souza et al., 2017). Concentrações cerca de duas vezes mais elevadas de clorofila *a*, *b* e carotenoides em *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) expostas ao Al indica que a

falta de Al pode prejudicar as reações fotossintéticas nas espécies acumuladoras de Al (Cury et al., 2020), o que já tinha sido sugerido para espécies desta família testadas em campo (Andrade et al., 2011). Mas resultados recentes (Silva et al., 2023) sugerem que a menor taxa de fotossíntese em *Q. grandiflora* quando cultivada em ausência de Al em solução nutritiva é consequência de menor desenvolvimento ‘radicular’ e consequentemente menor hidratação, abertura estomática e performance da enzima de carboxilação, Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), reduzindo a assimilação de CO₂. De fato, raízes de *Q. grandiflora* são 32% mais longas e mostram 67% mais biomassa quando cultivadas em substrato irrigado com Al, em relação à irrigação sem Al (Cury et al., 2020). Da mesma forma, a ausência de Al na solução nutritiva reduz o crescimento e biomassa radicular de *V. tucanorum*, que mostra raízes necróticas a partir de sete dias e menor emissão de raízes (Bressan et al., 2021), indicando a raiz como o primeiro local a perceber fisiologicamente a falta de Al.

Assim como na parte aérea e raízes das espécies acumuladoras dependentes de Al, as sementes também mostram indício da dependência deste elemento. Sementes de espécies acumuladoras de Al do Cerrado mostram cerca de 5.000 até 40.000 mg de Al por kg de semente (Haridasan, 2008). Mais recentemente, estudo de germinação usando indicadores histoquímicos da presença de Al em tecidos de *Q. grandiflora* sugere que o Al pode estar envolvido no processo germinativo, havendo “consumo” de Al desde a germinação até o estabelecimento de plântulas (Castro et al., 2024). Outro estudo mostrou que embriões isolados de *V. tucanorum* não germinam em meio de cultura sem Al (Nogueira et al. 2024).

Porém o uso e a distribuição dessas reservas de Al pela planta nas fases iniciais do seu desenvolvimento ainda permanecem pouco explorados. Em plantas acumuladoras crescendo em campo já se identificou a ausência de relação direta entre a disponibilidade de Al no solo e a capacidade de acúmulo de Al nas folhas de espécies de Vochysiaceae (Andrade et al. 2011; Nogueira et al. 2019). Em sementes de *Q. grandiflora*, a aplicação exógena de Al não melhora o desempenho germinativo (Castro et al., 2024). Logo, o uso das reservas da semente parece ser a fonte primária de Al utilizada no desenvolvimento inicial dessas espécies acumuladoras, embora não existam evidências diretas mostrando essa possibilidade em sementes e plântulas dessas espécies.

Se as raízes vem se mostrando o primeiro local a perceber a falta de Al nessas espécies, com menor desenvolvimento radicular e o aparecimento de raízes necróticas

(Cury et al., 2020; Bressan et al., 2021), e o acúmulo de Al nas folhas dessas espécies pode atingir quase 20.000 mg Al kg⁻¹ (Haridasan and Araújo, 1988), então é possível que a distribuição e o acúmulo de diferentes concentrações de Al nos órgãos vegetais representem o motivo pelo qual a parte aérea apresenta sintomas de falta de Al mais tardiamente. Sendo assim, considerando que o incremento externo de Al parece não exercer efeito sobre a germinação dessas plantas, investigar a distribuição do Al nas fases iniciais do desenvolvimento e o acúmulo de Al em cada órgão, pode auxiliar a demonstrar onde o Al é mais requerido ao longo do tempo em plantas acumuladoras.

2. Objetivos

Testar se a presença de Al melhora a performance germinativa de *Vochysia tucanorum*, espécie acumuladora de Al. Para tanto, germinamos sementes de *V. tucanorum* em presença de água deionizada e 250 µM Al. A variável-chave para norteamento da pesquisa foi a porcentagem de germinação (G%).

Além disso, testar a hipótese que o consumo da reserva de Al da semente atinge um limite temporal, a partir da qual os órgãos começam a apresentar sintomas de “carência de Al”. Logo, investigamos em quais proporções entre os órgãos o Al das reservas seminais é distribuído e acumulado ao longo do desenvolvimento da planta. Para isso, germinamos sementes de *V. tucanorum* e medimos o crescimento das plântulas em solução com 0 e 370 µM Al. Aqui, a variável-chave para testar a hipótese foi a concentração de Al nos órgãos das plantas.

3. Material e Métodos

3.1 Material vegetal e condições experimentais

Estudo da performance germinativa e desenvolvimento vegetal

Para os dois experimentos, foram utilizadas sementes de *Vochysia tucanorum* Mart. (Vochysiaceae) coletadas na Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara (22° 46' 30" – 22° 50' 30" S e 49° 10' 30" – 49° 15' 30" O), no município de Águas de Santa Bárbara, SP.

No estudo de performance germinativa, as sementes foram mantidas por 30 dias sobre papel filtro umedecido, em gerbox de material plástico e transparente (11cm x 11cm x 3,5cm). Posteriormente, no estudo de desenvolvimento vegetal, por 30, 45 e 60 dias nas mesmas condições. As gerboxes foram lavadas previamente com solução de hipoclorito (5% v/v) para evitar contaminação.

Ambos os experimentos foram mantidos em câmaras de germinação do tipo BOD (Eletrolab, São Paulo, Brasil), sob luz fluorescente ($80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), com fotoperíodo 12/12h e temperatura de 30°C no claro e 25°C no escuro (Barbosa et al., 1999).

3.2 Desenho experimental

Estudo da performance germinativa

Três lotes de sementes de *V. Tucanorum*, com 100 sementes em cada, tiveram a concentração de Al medida previamente. Posteriormente, 100 sementes foram divididas em lotes de 50 sementes por tratamento (0 e 250 μM Al) e postas para germinar em 5 repetições (gerbox), sendo 10 sementes por repetição. Foram medidas variáveis de performance germinativa, incluindo a porcentagem de germinação (%G). Os tratamentos foram aplicados nas gerboxes por meio de solução de água deionizada com e sem Al mantida à pH 4, de modo a manter o mesmo pH entre os tratamentos e o Al solúvel no tratamento com Al.

A concentração de 250 μM Al foi de acordo com Nogueira et al. (2024), que observaram elevada taxa de germinação de sementes de *V. tucanorum* nesta concentração de Al. Os tratamentos foram aplicados de modo a umedecer o papel de filtro em 2 a 3 vezes sua massa seca (as sementes mantinham-se estáveis sem boiar sobre o papel). O experimento foi monitorado diariamente, por 30 dias, considerando-se sementes germinadas a partir da emissão de 1 mm de radícula.

Estudo do desenvolvimento vegetal

No início do experimento, utilizando-se sementes extras, 100 embriões germinados (com 15 dias) foram separados do tegumento piloso e alado e ambas estruturas foram secas e enviadas para análise de determinação total de Al nos tecidos.

Além disso, utilizando-se 1200 sementes de *V. tucanorum*, estas foram divididas em dois tratamentos (0 e 370 μM Al) que foram executados com 10 repetições (20 sementes por caixa), com 3 coletas (30, 45 e 60 dias após o tratamento — DAT). A concentração de 370 μM Al representa a metade da concentração mínima usada para crescimento de plantas adultas de *V. tucanorum* em solução nutritiva (Bressan et al.

2021). O número elevado de sementes foi essencial para gerar número de plântulas suficientes para a massa mínima utilizada na análise de Al nos tecidos.

Aos 30, 45 e 60 DAT, foram medidas variáveis biométricas não destrutivas e os parâmetros biométricos destrutivos, tais como área foliar, biomassa dos órgãos e concentração de Al nos órgãos (raiz, caule e folha). A concentração de Al nos órgãos foi medida para se detectar o destino do Al entre os órgãos ao longo de seu desenvolvimento.

Assim como no experimento de performance germinativa, os tratamentos foram aplicados por meio de solução de água deionizada com e sem Al mantida à pH 4, umedecendo o papel filtro em 2 a 3 vezes sua massa seca.

3.3 Variáveis medidas

Germinabilidade (G%)

A germinabilidade representa a porcentagem de germinação (G%), que foi calculada de acordo com [Labouriau & Agudo \(1987\)](#), seguindo a equação abaixo:

$G\% = [(\text{número total de sementes germinadas por réplica})/(\text{número total de sementes dispostas para germinar em cada réplica})] \times 100.$

Tempo médio de germinação (TMG)

O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com [Labouriau & Agudo \(1987\)](#), seguindo a equação abaixo:

$TMG = \sum n_i \cdot t_i / \sum n_i$, onde n_i corresponde ao número de sementes germinadas entre o intervalo de tempo t_{i-1} a t_i em dias.

Índice de velocidade de germinação (IVG)

O índice de velocidade de germinação foi calculado segundo o método descrito por [Maguire \(1962\)](#), de acordo com a equação abaixo:

$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, onde G_1, G_2 e G_n = número de sementes germinadas por réplica e N_1, N_2 e N_n = número de dias após a semeadura.

Concentração de Al nas estruturas seminais e órgãos de plântulas

No início do experimento de performance germinativa, foram coletadas três repetições extras de sementes, com 100 sementes cada, para realização da medida de concentração de Al. Posteriormente no experimento de desenvolvimento vegetal, outras 300 sementes foram divididas em 3 repetições (100 sementes cada) e tiveram seus embriões germinados e tegumentos alados separados, além disso, as 1200 sementes germinadas com 10 repetições (20 plântulas por caixa) tiveram os diferentes órgãos de plantas crescidas nos dois tratamentos (0 e 370 μM Al) e coletadas em cada data de coleta do estudo de desenvolvimento vegetal. Todas essas amostras foram enviadas para análise de determinação total de Al nos tecidos, no Laboratório de Nutrição de Plantas do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas, SP. As amostras secas (até 60 °C em estufa de circulação forçada de ar) foram moídas e digeridas em solução de ácidos nítrico e perclórico (3:1 v/v). A concentração de Al foi medida por espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente (ICP-OES), e os valores expressos em mg de Al por kg de massa seca.

Análises biométricas

O comprimento (cm) da raiz e da parte aérea foram medidos com régua milimetrada. O comprimento da parte aérea representou a distância entre o colo da planta e o meristema apical caulinar e o comprimento da raiz principal, a distância entre o colo da planta e o meristema apical da maior raiz.

O número de folhas foi contado, considerando-se todas as folhas emitidas, mesmo as imaturas e senescentes ainda unidas às plantas pelo pecíolo. Quando houve queda de folhas, estas foram separadas (para cada réplica) e consideradas na análise final. Estas medidas foram realizadas em dez plantas (repetições) por tratamento.

Biomassa dos órgãos e área foliar

Amostras de dez plantas (repetições) tiveram os órgãos (raiz, caule e folhas) separados com estilete e colocadas em sacos de papel craft. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar, a 60 °C, até massa constante, e os valores foram obtidos com uma balança de precisão (g).

A área foliar (cm^2) de dez repetições foi medida com integrador de área foliar, LI-3100C (LI-COR, Lincoln, NE, USA) do Departamento de Biodiversidade da Unesp de Rio Claro.

3.4 Forma de análise dos resultados

Em ambos os experimentos, estudamos como causas de variação a presença e ausência de Al. Estas causas de variação foram analisadas ao final do experimento de performance germinativa e, para o estudo de desenvolvimento vegetal, em cada época de coleta (30, 45, 60 DAT).

No estudo de performance germinativa, foram objeto de análise %G, TMG e IVG. No estudo de desenvolvimento vegetal foram objeto de análise as variáveis relacionadas à biometria, biomassa de órgãos, além da concentração de Al nos diferentes órgãos das plantas.

Em ambos os experimentos, utilizamos o teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos dados. Um teste t-Student foi utilizado para verificar as diferenças entre os tratamentos em cada data de coleta.

4. Resultados

4.1 Estudo de performance germinativa

Concentração de Al na semente

Como esperado, a concentração de Al no lote de semente usado para o estudo da performance germinativa mostrou valores elevados, com concentrações acima de 20.000 mg kg⁻¹ (Tabela 1), confirmando a característica de espécie acumuladora de Al.

Tabela 1. Valores médios ($n = 3 \pm$ erro padrão) da concentração de Al em sementes de *V. tucanorum* Mart. (Vochysiaceae) coletadas na Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara, município de Águas de Santa Bárbara, SP.

Espécie	mg Al kg ⁻¹ semente
<i>Vochysia tucanorum</i>	21.470 $\pm$ 2.690,30

Germinabilidade (G%)

Após 30 dias, os valores da porcentagem de germinação (G%) foram semelhantes para os dois tratamentos, mostrando G% acima de 95% (Figura 1). Apesar de não evidenciar diferença estatística significativa entre os tratamentos, o tratamento com água deionizada induziu maior G%, com 98% de germinabilidade, seguido pelo tratamento com 250 µM Al que apresentou 96% (Figura 1).

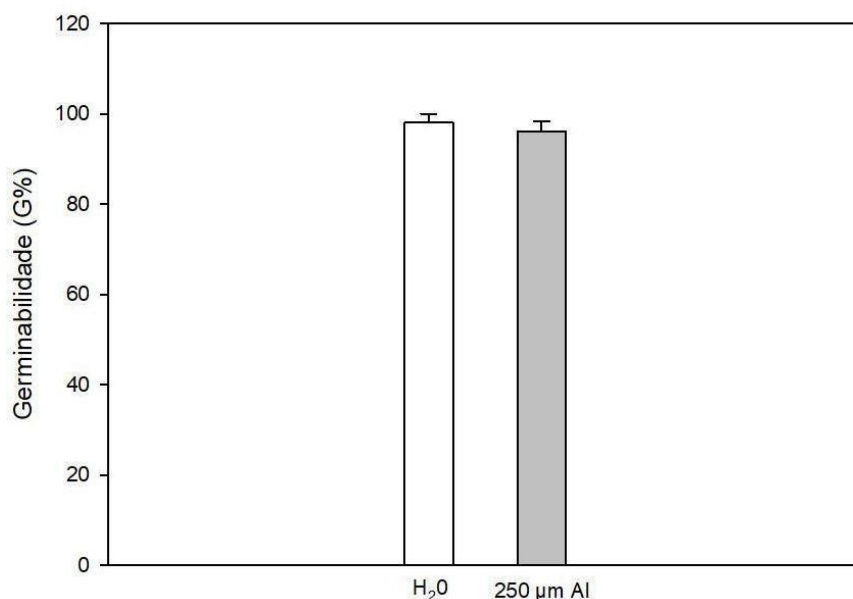


Figura 1. Valores médios ($n = 5$) da porcentagem de germinação de lotes de 10 sementes de *V. tucanorum* postas para germinar sobre papel filtro com água deionizada e 250 μ M Al. Ausência de letras entre os tratamentos indica que não há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

Tempo médio de germinação (TMG)

Ao término do experimento, os dois tratamentos levaram o mesmo tempo para germinar a maioria das sementes em cada repetição. Da mesma forma que para G%, embora não tenha havido diferença significativa entre os tratamentos, o tratamento com água deionizada induziu o maior tempo médio de germinação ($13,97 \pm 0,50$ dias), enquanto o tratamento com 250 μ M Al ($13,43 \pm 0,50$ dias) apresentou o menor valor (Figura 2).

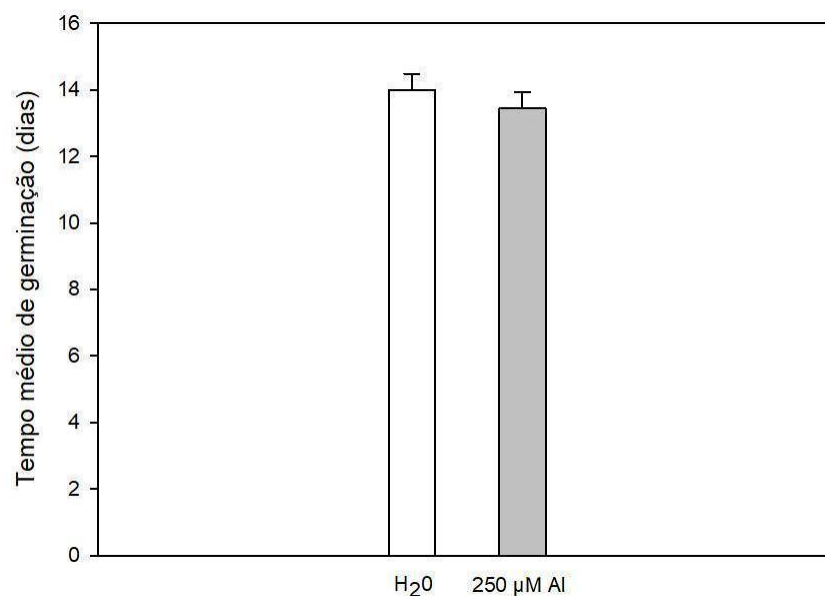


Figura 2. Valores médios ($n = 5$) do tempo médio de germinação de lotes de 10 sementes de *V. tucanorum* postas para germinar sobre papel filtro com água deionizada e 250 μM Al. A ausência de letras entre os tratamentos indica que não há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Este parâmetro seguiu o mesmo padrão de resposta das outras variáveis, tendo sido semelhante entre os tratamentos. Da mesma forma, o tratamento com água deionizada induziu o maior IVG e o tratamento com 250 μM Al apresentou menor IVG, mas ambos foram valores muito próximos e estatisticamente iguais entre si (Figura 3).

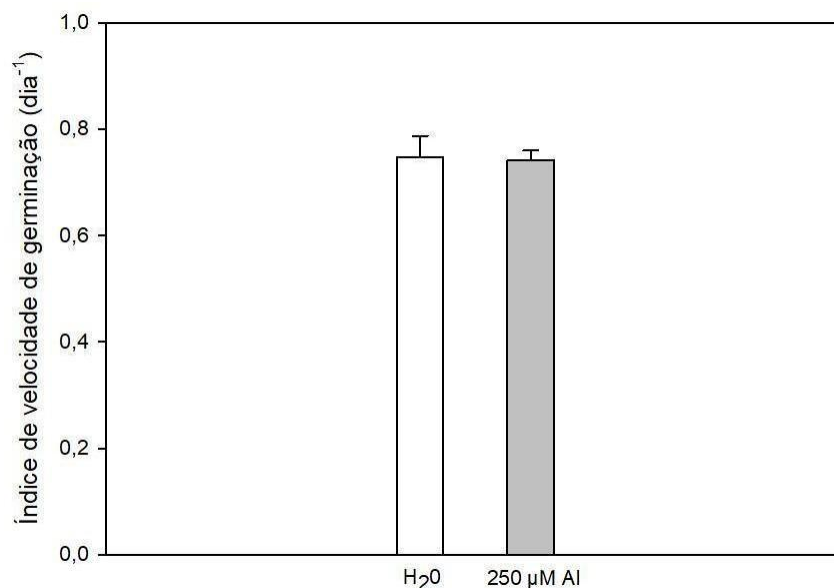


Figura 3. Valores médios ($n = 5$) do índice de velocidade de germinação de lotes de 10 sementes de *V. tucanorum* postas para germinar sobre papel filtro com água deionizada e 250 µM Al. A ausência de letras entre os tratamentos indica que não há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

4.2 Estudo de desenvolvimento vegetal

Concentração de Al

As medidas de concentração de Al realizadas no início do experimento, no embrião germinado e no tegumento alado (Figura 4) mostraram concentração elevada de Al nestas estruturas. A concentração de Al no embrião germinado foi 41% maior que no tegumento alado (Figura 5).

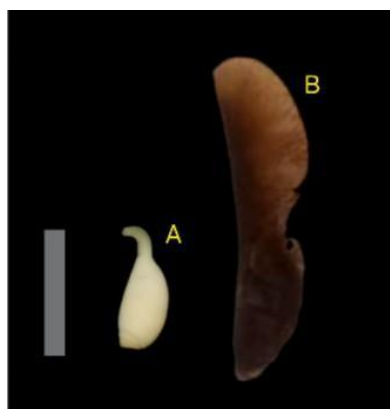


Figura 4. Detalhes morfológicos do embrião germinado (A) e do tegumento alado (B) de sementes de *V. tucanorum* Mart. (Vochysiaceae) coletadas na Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara, município de Águas de Santa Bárbara, SP. Barra = 1cm.

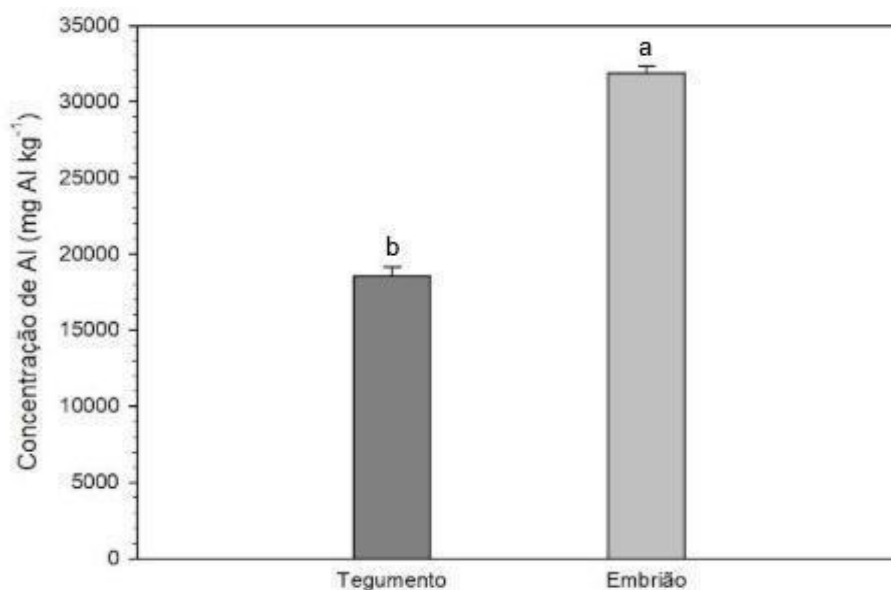


Figura 5. Valores médios ($n = 3$) da concentração de alumínio no embrião germinado e tegumento alado de sementes de *V. tucanorum* postas para germinar sobre papel filtro com $0 \mu\text{M}$ Al aos 15 dias. Letras distintas entre as estruturas (tegumento e embrião) indicam que há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

A concentração de Al nos órgãos foi variável entre os tratamentos em todas as datas de coleta. Ao longo do estudo, a folha foi o órgão que mostrou as maiores concentrações deste elemento (Tabela 2), tanto para as plantas crescidas com Al (Figura 6A) como sem Al (Figura 6B). Aos 30 DAT, as plantas crescidas com 0 e $370 \mu\text{M}$ Al mostraram 85,4% e 93,8% de Al acumulado em suas folhas, respectivamente, enquanto suas respectivas raízes mostraram apenas 4,8% e 1,9% do Al (Figuras 6A e 6B). Aos 45 e 60 DAT, este padrão de resposta seguiu muito parecido, com quase 90% do Al alocado nas folhas, em relação aos outros órgãos (Figura 6). O tratamento com Al induziu maior concentração de Al nas folhas e raízes apenas aos 30 e 60 DAT, e nos caules apenas aos 30 DAT (Tabela 2). A raiz foi o órgão com as menores porcentagens de acúmulo de Al nos dois tratamentos, nas três épocas de avaliação (Figuras 6A e 6B). Logo, até os 60 dias após a germinação, a maior parte do Al se aloja nas folhas e a menor parte nas raízes.

Tabela 2. Valores médios ($n = 3 \pm$ erro padrão) da concentração de Al na folha, caule e raiz de plantas de *V. tucanorum* Mart. (Vochysiaceae) aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT) com 0 μM Al e 370 μM Al. Letras distintas entre os tratamentos indicam que há diferença significativa pelo teste de t-Student.

Dias após tratamento	Órgão	mg Al kg ⁻¹ massa seca	
		0 μM Al	370 μM Al
30 DAT	Folha	28.113 $\pm$ 78,24 b	33.891 $\pm$ 57,10 a
	Caule	13.522,61 $\pm$ 32,68 b	15.807,56 $\pm$ 136,85 a
	Raiz	12.565,74 $\pm$ 74,01 b	13.482,46 $\pm$ 76,84 a
45 DAT	Folha	39.089,43 $\pm$ 176,10 a	36.056,17 $\pm$ 288,43 b
	Caule	16.096,38 $\pm$ 324,69 a	15.803,87 $\pm$ 498,40 a
	Raiz	14.531,38 $\pm$ 194,16 a	14.990,18 $\pm$ 235,77 a
60 DAT	Folha	35.384,64 $\pm$ 144,50 b	37.905,38 $\pm$ 45,14 a
	Caule	15.760,43 $\pm$ 59,25 a	15.479,89 $\pm$ 141,39 a
	Raiz	15.259,05 $\pm$ 63,03 b	15.777,11 $\pm$ 31,3723 a

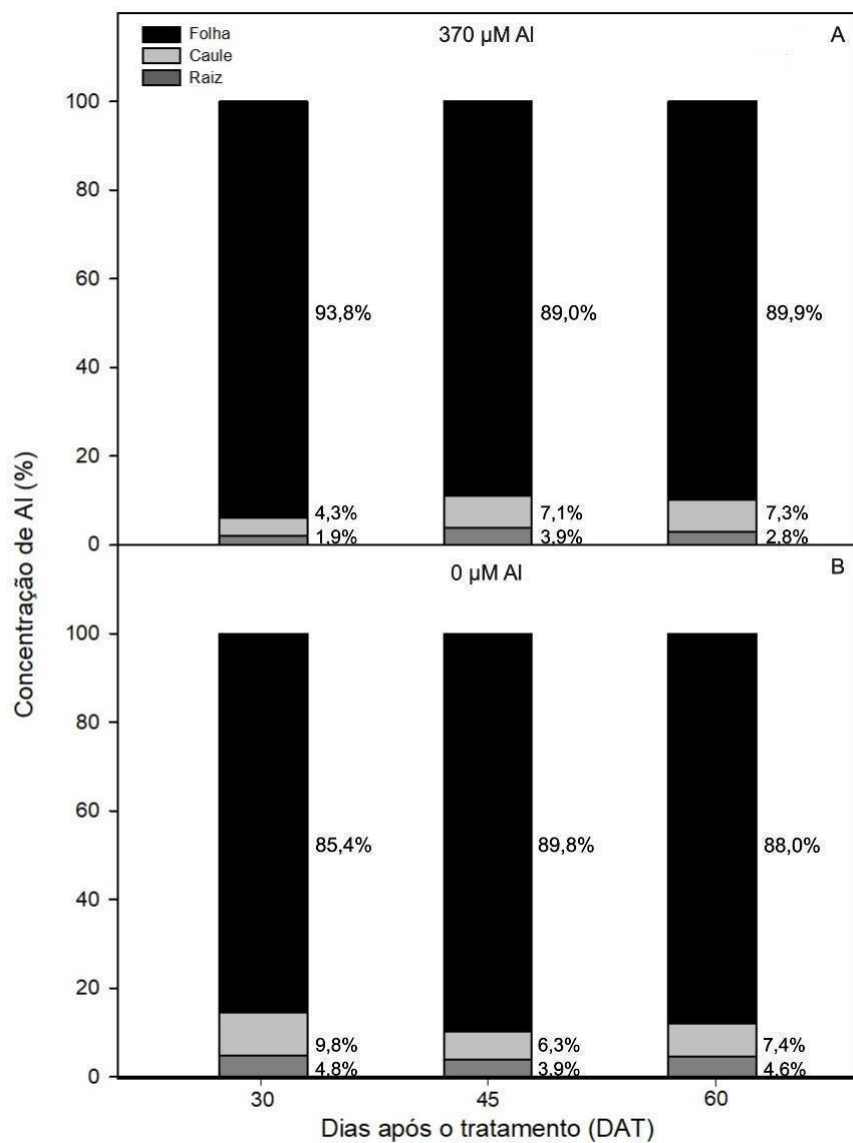


Figura 6. Porcentagem (%) da concentração de alumínio na folha, caule e raiz de plantas de *V. tucanorum*, cujas sementes foram postas para germinar sobre papel filtro com 0 µM Al e 370 µM Al, aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT).

Análises Biométricas

Após 60 dias, ambos os tratamentos apresentaram características morfológicas externas da planta similares em cada data de coleta (Figura 4).

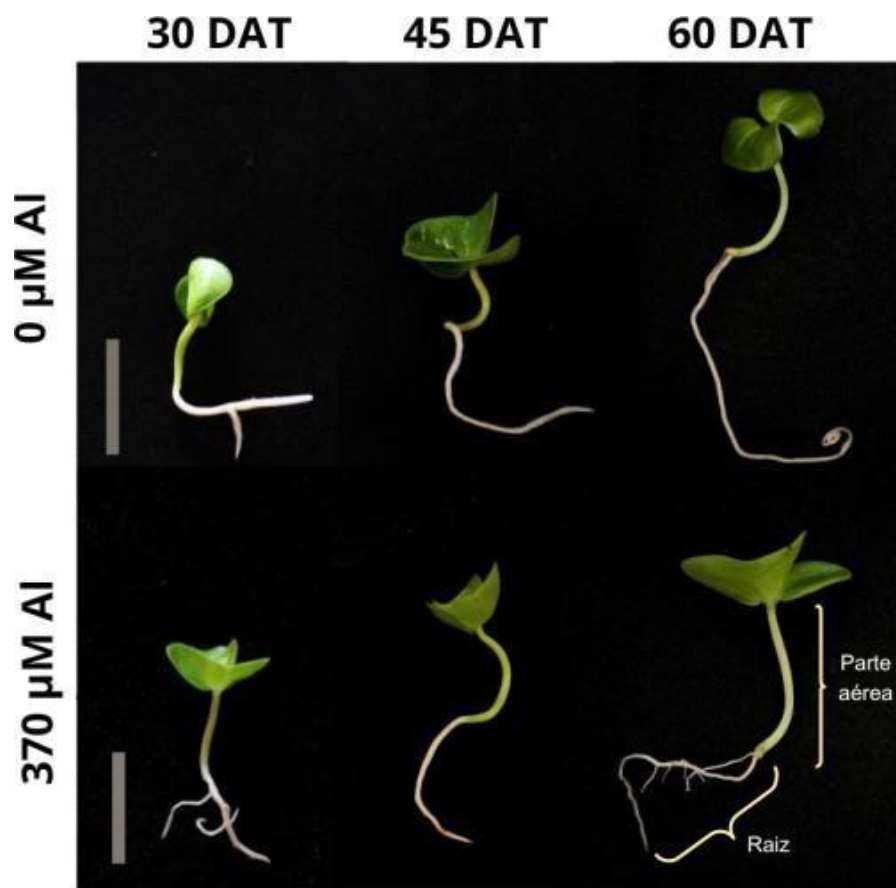


Figura 7. Detalhes morfológicos das plântulas de *V. tucanorum* submetidas as soluções com 0 μM e 370 μM Al aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT). Barras = 2 cm.

O comprimento de raiz e parte aérea foram semelhantes entre os dois tratamentos em todas as datas de coleta. Embora sem diferença significativa, aos 30 DAT, o tratamento com 370 μM Al mostrou maior comprimento de raiz e menor de parte aérea em relação ao tratamento sem Al; entretanto, aos 60 DAT, o tratamento com Al mostrou maior comprimento da parte aérea e menor de raiz, em relação ao tratamento sem Al (Figuras 7 e 8). Como esperado, ao fim do experimento, as plantas de *V. tucanorum* mostraram raízes maiores que o caule nos dois tratamentos (Figura 8). Apesar disso, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos em nenhuma data de coleta.

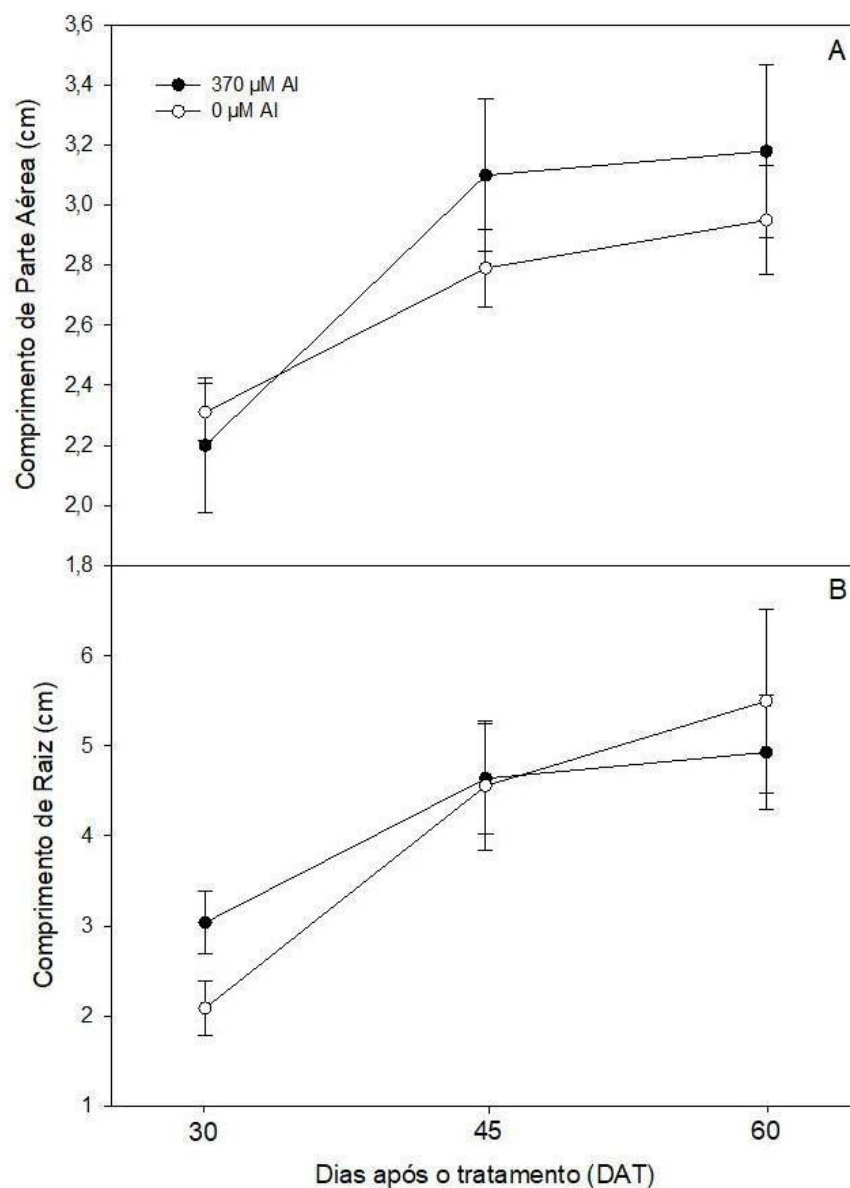


Figura 8. Valores médios ($n = 10$) do comprimento de raiz e parte aérea de plântulas de *V. tucanorum* postas para germinar sobre papel filtro com 0 μM Al e 370 μM Al aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT). A ausência de letras entre os tratamentos, em cada época de avaliação, indica que não há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

Biomassa dos órgãos e área foliar

Dos 30 dias até os 60 dias, houve inversão na área foliar (AF) entre os tratamentos, em que o tratamento controle induziu maior AF que o tratamento com Al (Figura 9). Aos 30 e 60 DAT, a AF foi estatisticamente semelhante entre os tratamentos, mas aos 45 DAT as plantas mantidas com água mostraram AF 40% maior que aquelas

mantidas com Al (Figura 9). A AF das plantas controle foi mantida (entre os 45 e 60 dias), mas as plantas com Al mostraram crescimento da AF até os 60 dias (Figura 9).

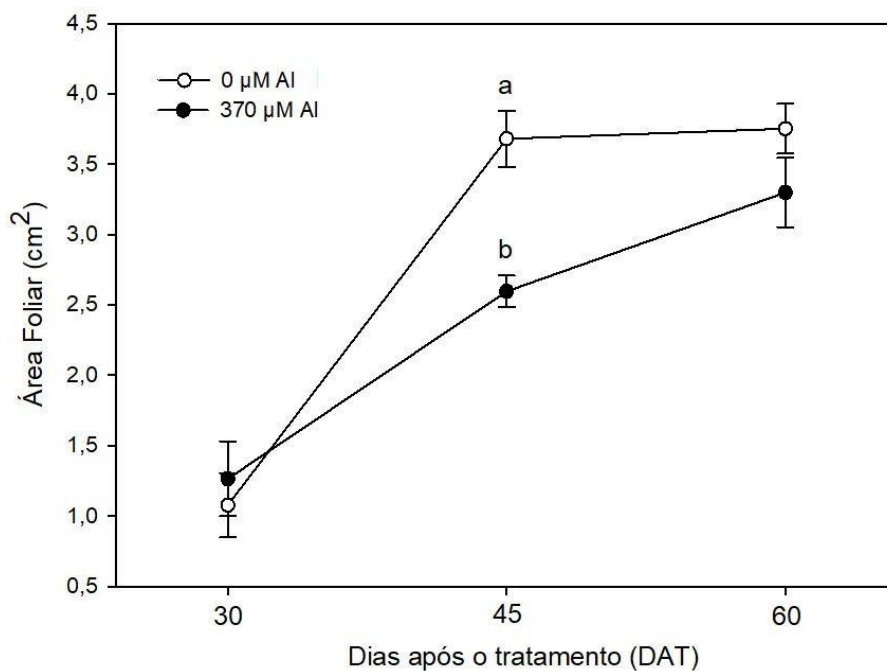


Figura 9. Valores médios ($n = 10$) da área foliar de plantas de *V. tucanorum* com 0 µM Al e 370 µM Al, aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT). Em cada época de avaliação, letras distintas entre os tratamentos indicam que há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

Quanto à biomassa dos órgãos, embora tenha havido diferenças aparentemente relevantes entre os tratamentos em cada época de avaliação, apenas aos 60 DAT a biomassa de raiz apresentou diferença significativa neste parâmetro entre plantas com e sem Al. De maneira geral, a biomassa de folhas foi mantida entre os dois tratamentos ao longo do tempo (Figura 10A), enquanto a biomassa de caule e raiz cresceu (para os dois tratamentos) entre 30 e 45 dias (Figura 10B e C). Entre os 45 e 60 dias, a biomassa de caule dos dois tratamentos e de raiz das plantas controle (Figura 10C) manteve-se na mesma faixa de valores, ao passo que a biomassa de raiz das plantas com Al decaiu (Figura 10C).

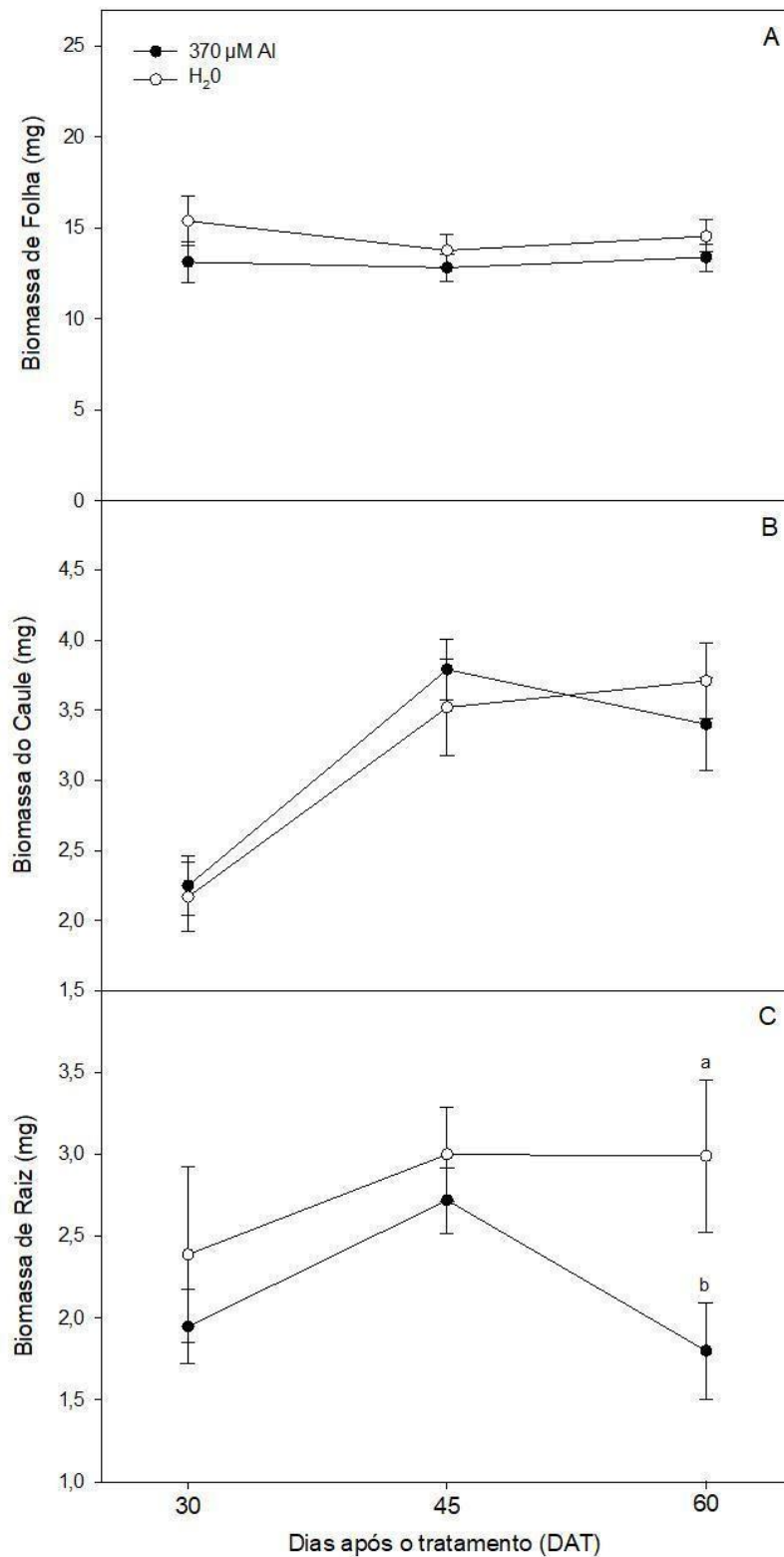


Figura 10. Valores médios ($n = 10$) da biomassa de raiz, caule e folha de plantas de *V. tucanorum* com 0 μ M Al e 370 μ M Al, aos 30, 45 e 60 dias após o tratamento (DAT). Para cada época de avaliação, letras distintas entre os tratamentos indicam que há diferença significativa pelo teste de t-Student. Barras representam o erro padrão.

5. Discussão

No estudo de desempenho germinativo, observamos que as sementes de *V. tucanorum* germinadas sobre papel filtro com 250 μM Al e água deionizada (controle) mostraram resultados muito similares. A porcentagem de germinação (Figura 1), tempo médio de germinação (Figura 2) e índice de velocidade de germinação (Figura 3) foi semelhante para sementes germinadas em meio com ou sem Al. Em um estudo recente com sementes de *Q. grandiflora*, acumuladora de Al, notou-se que a aplicação exógena de Al não exerce efeito na germinação (Castro et al., 2024). Logo, nossos resultados confirmam que mesmo em meio ausente de Al, as sementes de *V. tucanorum* ainda germinam. Isso poderia abrir dois caminhos conclusivos: ou (i) as sementes desta espécie não necessitam de Al para germinar, ou (ii) o Al já se encontra em concentração suficiente em suas sementes, assumindo que este elemento seja “essencial” para o processo germinativo. Os lotes iniciais de sementes do estudo de performance germinativa mostraram concentração de Al acima de 20.000 mg kg^{-1} (Tabela 1). Logo, se o Al é, ‘de alguma forma’, importante para o processo germinativo, este elemento já estava na semente, justificando a performance germinativa semelhante entre sementes embebidas com água e 250 μM Al (Figuras 1, 2 e 3).

No estudo com sementes de *Q. grandiflora* em que a aplicação de Al não aumentou a performance germinativa (Castro et al., 2024), também se evidenciou por testes histoquímicos qualitativos que o Al está presente no endosperma do embrião de *Q. grandiflora* e que é “usado” com o crescimento da plântula. Estes autores sugerem, embora ainda sem evidências concretas, que o Al de alguma forma desempenhe algum papel ainda desconhecido no processo germinativo de espécies acumuladoras de Al. Contudo, se a semente de *Q. grandiflora* (Castro et al. 2024) e *V. tucanorum* no presente estudo carregam concentração de Al que de alguma forma interfere no processo germinativo, é preciso verificar o destino do Al dentre os órgãos no início do desenvolvimento.

No estudo de crescimento inicial das plantas, o embrião germinado (15 dias) apresentou 31.850 mg Al kg^{-1} , 41% maior que a concentração de Al no tegumento alado e piloso (Figura 5). Posteriormente, nas plantas com 30, 45 e 60 DAT, a suplementação com Al induziu maior acúmulo deste elemento principalmente nas folhas aos 30 e 60 DAT, em relação às plantas tratadas com água (Tabela 2). Contudo, independentemente destas diferenças entre os dois tratamentos, o Al é acumulado prioritariamente nas

folhas, com 85–93% do Al alocado neste órgão. Portanto, é possível que em certo momento do desenvolvimento inicial dessas plantas, o Al transportado das sementes para as folhas comece a ser diluído, atingindo um limite temporal, como preconizado em nossa segunda hipótese. Porém, aos 60 dias do presente estudo, este limite não parece ter sido atingido, uma vez que as plantas não mostraram sintomas de “deficiência” de Al (Figura 7). Ainda é importante observar que aos 60 dias as plantas em geral ainda não haviam emitido folhas verdadeiras, apenas as cotiledonares (Figura 7). Neste sentido, após 120 dias de cultivo sem suplementação de Al no substrato, plantas de *Q. grandiflora* mostram sintomas de clorose foliar (Cury et al., 2020), fato também observado em plantas de *V. tucanorum* cultivada em solo calcário (Souza et al., 2017) ou em solução nutritiva ausente em Al (Bressan et al., 2021).

6. Conclusão

Logo, nossos resultados demonstram que a presença de Al não está associada à melhora da performance germinativa de sementes de *V. tucanorum* e que o Al do embrião é transportado prioritariamente para as folhas. Contudo, o limite temporal de “utilização do Al” pela planta não é atingido até 60 dias após a germinação, quando ainda não se observam folhas verdadeiras. Assim, a continuidade de mais avaliações além de 60 dias se faz necessária.

7. Referências Bibliográficas

Andrade LRM, Barros LMG, Echevarria GF, Amaral LIV, Cotta MG, Rossatto DR, Haridasan M, Franco AC. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. **Environmental and Experimental Botany**, 70:37–42, 2011

Banhos OFAA, de Souza MC, Habermann G. High aluminum availability may affect *Styrax camporum*, an Al non-accumulating species from the Brazilian savanna. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 28:321-332, 2016

Barbosa AR, Yamamoto K, Valio IFM. Effect of light and temperature on germination and early growth of *Vochysia tucanorum* Mart., Vochysiaceae, in cerrado and forest soil under different radiation levels. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, 22:275-280, 1999

Bressan ACG, Coan AI, Habermann G. X-ray spectra in SEM and staining with chrome azurol S show Al deposits in leaf tissues of Al-accumulating and non-accumulating plants from the cerrado. **Plant Soil**, 404:293–306, 2016

Bressan ACG, Bittencourt BMO, Silva GS, Habermann G. Could the absence of aluminum (Al) impair the development of an Al-accumulating woody species from Brazilian savanna? **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 33:281–292, 2021

Castro LMR, Vinson CC, Almeida AL, Cury NF, André MSF, Williams TCR, Pereira LFR. *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) seed reserves and aluminum: Usage and mobilization during germination and seedling development. **Plant Species Biology**, 1–15, 2024

Chen LS, Qi YP, Smith BR, Liu XH. Aluminum-induced decrease in CO₂ assimilation in Citrus seedlings is unaccompanied by decreased activities of key enzymes involved in CO₂ assimilation. **Tree Physiology**, 25:317-324, 2005

Chenery EM. Aluminium in the plant world. Part I: general survey in dicotyledons.

Kew Bulletin, 3:173–183, 1948

Cury NF, Silva RCC, Andre MSF, Fontes W, Ricart CAO, Castro MS, Silveira CES, Williams TCR, Sousa MV, Pereira LAR. Root proteome and metabolome reveal a high nutritional dependency of aluminium in *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). **Plant Soil**, 446:125–143, 2020

Hajiboland R, Panda CK, Lastochkina O, Gavassi MA, Habermann G. Pereira, JF. Aluminum Toxicity in Plants: Present and Future. **Journal of Plant Growth Regulation**, 42:3967–3999, 2023

Haridasan M. Aluminium accumulation by some cerrado native species of central Brazil. **Plant Soil**, 65:265-273, 1982

Haridasan M, Araújo GM. Aluminium-accumulating species in two forest communities in the cerrado region of central Brazil. **Forest Ecology and Management**, 24:15-26, 1988.

Haridasan M. Performance of *Miconia albicans* (Sw.) Triana, an aluminium accumulating species in acidic and calcareous soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 19:1091-1103, 1988

Haridasan M. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 20:183–195, 2008

Horst WJ, Wang Y, Eticha D. 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, 2010

Jansen S, Watanabe T, Smets E. Aluminium accumulation in leaves of 127 species in Melastomataceae, with comments on the Order Myrtales. **Ann. Bot**, 90:53–64, 2002

Kopittke PM, Moore KL, Lombi E, Gianoncelli A, Ferguson, BJ, Blamey FPC,

Menzies NW, Nicholson TM, McKenna BA, Wang P, Gresshoff PM, Kourousias G, Webb RI, Green K, Tollenaere A. Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. **Plant Physiology**, 167:1402-1411, 2015

Kopittke PM, Blamey FPC, Menzies NW. Toxicities of Al Cu, and Lainclude ruptures to rhizodermal and root cortical cells of cowpea. **Plant Soil**, 303:217–227, 2008

Labouriau LG, Agudo M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 59: 37-56, 1987

Maguire JD. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Sci** 2:176–177, 1962

Malta PG, Silva AS, Ribeiro C, Campos NV, Azevedo AA. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. **Plant Soil**, 408:369-384, 2016

Nogueira MA, Bressan ACG, Pinheiro MHO, Habermann G. Aluminum-accumulating Vochysiaceae species growing on a calcareous soil in Brazil. **Plant and Soil**, 437:313–326, 2019

Nogueira MA, Gavassi MA, Cardoso JC, Habermann G. Is aluminum (Al) necessary for seed germination of two Vochysiaceae Al-accumulating species?. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 159:50, 2024

Silva GS, Rodrigues JS, Carvalho BMO, Gavassi MA, Bressan ACG, Habermann G. Absence of aluminium compromises root integrity, reduces leaf hydration and Rubisco performance in *Qualea grandiflora*, an Al-accumulating species. **Plant Biology**, 25:740-749, 2023

Souza MC, Habermann G, do Amaral CL, Rosa AL, Pinheiro MHO, Da Costa FB. *Vochysia tucanorum* Mart.: an aluminum-accumulating species evidencing calcifuge behavior. **Plant Soil**, 419:377-389, 2017

Vitorello VA, Capaldi FR, Stefanuto VA. Recent advances in aluminium toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 17:129–143, 2005

Von Uexküll HR, Mutert E. Global extent, development and economic impact of acid soils. In: Date, R.A. (Ed.), *Plant Soil Interactions at Low pH*. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, 171:5–19, 1995