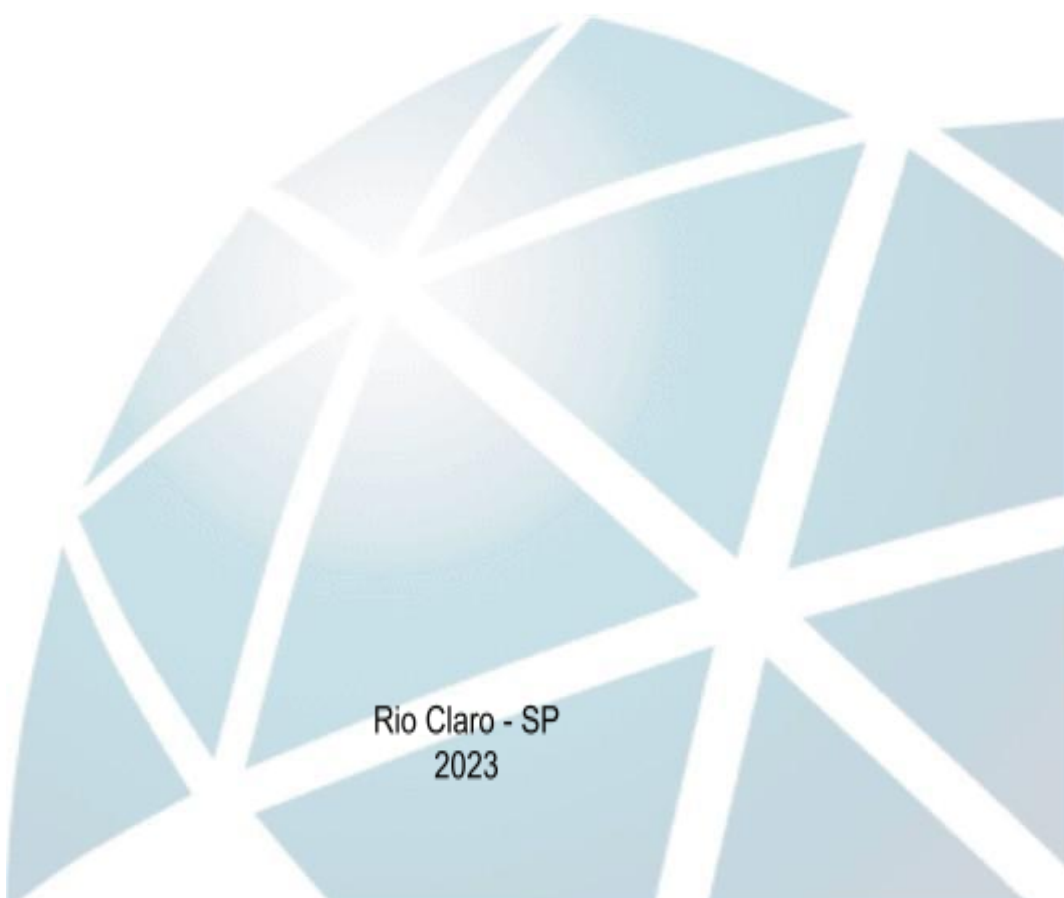

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JULIANA SARTORI RODRIGUES

**CURVAS DE CARBOXILAÇÃO EM *QUALEA
GRANDIFLORA* MART. EM RESPOSTA AO
INCREMENTO DE ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO
NUTRITIVA**



Rio Claro - SP
2023

JULIANA SARTORI RODRIGUES

**CURVAS DE CARBOXILAÇÃO EM *QUALEA GRANDIFLORA* MART.
EM RESPOSTA AO INCREMENTO DE ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO
NUTRITIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Bacharela e
Licencianda em Ciências Biológicas

Orientador: Profa. Dra. Marina Alves Gavassi –
Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Habermann –
Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP

Rio Claro - SP
2023

R696c Rodrigues, Juliana Sartori
Curvas de carboxilação em *Qualea Grandiflora* Mart. em resposta ao
incremento de alumínio em solução nutritiva / Juliana Sartori Rodrigues. -- Rio
Claro, 2023
25 p. : tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências,
Rio Claro

Orientadora: Marina Alves Gavassi
Coorientador: Gustavo Habermann

1. Botânica. 2. Fisiologia vegetal. 3. Plantas Efeito do alumínio. 4.
Vochysiaceae. 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.

JULIANA SARTORI RODRIGUES

**CURVAS DE CARBOXILAÇÃO EM *QUALEA GRANDIFLORA* MART.
EM RESPOSTA AO INCREMENTO DE ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO
NUTRITIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Bacharela e
Licenciada em Ciências Biológicas

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Marina Alves Gavassi (orientadora)

Prof. Dr. Gustavo Habermann (coorientador)

Dr. Henrique Hespanhol Tozzi

Profa. Dra. Giselle Schwab Silva

Aprovado em: 13 de Junho de 2023



Assinatura do discente

Documento assinado digitalmente
gov.br MARINA ALVES GAVASSI
Data: 26/04/2023 08:35:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br GUSTAVO HABERMANN
Data: 25/04/2023 18:06:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) coorientador(a)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu pai, Osmar, que sempre me ajudou a realizar meus sonhos e ser a minha melhor versão, e especialmente a minha mãe, Marcia, que sempre foi a minha melhor amiga e que fez crescer em mim o interesse pela natureza, ela com certeza foi o motivo de eu ter escolhido a minha profissão e serei eternamente grata pela forma com que ela me fez enxergar o mundo. Às minhas avós, Cleusa e Totonha, que me ajudaram a ser a mulher que eu sou hoje e que levarei pra sempre comigo.

Ao Prof. Gustavo Habermann por suas aulas na graduação que me despertaram o interesse em fisiologia vegetal, por ser sempre tão gentil, paciente e me fazer crer na minha capacidade, mas principalmente por ter me acolhido em seu laboratório e me mostrado como o caminho da ciência e da pesquisa podem ser incríveis.

A Giselle Schwab Silva pela ajuda, por ter compartilhado tantos ensinamentos e vivências boas comigo durante os experimentos, você também acreditou em mim e me motivou a continuar trilhando meu caminho, espero ser uma mulher/cientista/pesquisadora/professora tão incrível quanto você um dia.

A meus amigos, Alicia, Catarina, Francisco, Gustavo, Hayen, Iryna, Lucas, Mario, Matheus, Natalia e Talita, vocês são a grande família que eu fiz em Rio Claro. Eu com certeza não teria chegado até aqui sem vocês e faria tudo de novo se fosse pra ter o privilégio de conviver com vocês de novo. Obrigada por terem compartilhado tantos momentos ao meu lado, terem me dado o prazer de aprender e crescer ao lado de vocês e por serem meus amigos. Tenham a certeza de que levo vocês sempre comigo em meu coração.

Ao meu namorado, Lourenço, por ter surgido na minha vida e a ter preenchido com tanto amor, carinho e risadas. Obrigada por todo o apoio que você me deu e por continuar comigo até quando as coisas ficam difíceis, eu amo você com todo o meu coração.

"Segue o teu destino,
Rega as tuas plantas,
Ama as tuas rosas.
O resto é a sombra
De árvores alheias."
(Fernando Pessoa).

RESUMO

Em solos ácidos ($\text{pH} < 5.0$) o alumínio (Al) edáfico geralmente encontra-se em sua forma tóxica (Al^{3+}). Em plantas intolerantes ao Al, este metal pode inibir o crescimento de raízes e causar diversos sintomas indiretos (na parte aérea) que prejudicam sua sobrevivência. Entretanto, algumas espécies de plantas são capazes de acumular Al em seus tecidos sem mostrar sintomas de toxicidade, denominadas espécies acumuladoras de Al. Como estas espécies o acumulam em suas folhas e há evidências de reação histoquímica positiva ao Al em tecidos fotossintetizantes, é possível que o Al possa estar relacionado (positivamente) aos processos fotossintéticos. Neste estudo, utilizamos mudas de *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) Mart., espécie arbórea acumuladora de Al da vegetação de Cerrado, que cresceram em solução nutritiva com concentrações crescentes de Al (0, 740 e 1480 μM Al) durante 60 dias. Medimos curvas de assimilação de CO_2 (A) em resposta à variação da concentração mesofílica intercelular de CO_2 (curvas A/Ci), a cada 15 dias. A maior concentração de Al proporcionou maiores taxas de trocas gasosas e maior crescimento radicular levando a aumento da eficiência aparente de carboxilação da enzima Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Concluímos que a ausência de Al prejudica o crescimento radicular de *Q. grandiflora*, comprometendo a absorção de água e, conseqüentemente, a hidratação foliar. Isso altera as taxas de assimilação de CO_2 e a eficiência da enzima Rubisco.

Palavras-chave: Al^{3+} ; acumuladoras de Al^{3+} ; Cerrado; Curvas A/Ci; Vochysiaceae.

ABSTRACT

In acidic soils ($\text{pH} < 5.0$), edaphic aluminum (Al) is usually found in its toxic form (Al^{3+}). In Al non-tolerant plants, this metal can inhibit root growth and cause several indirect symptoms (in the shoots) that affect their survival. Nevertheless, some plant species accumulate Al in their tissues without toxicity symptoms, and these are called Al-accumulating species. As Al is accumulated in their leaves and there is evidence of positive histochemical reaction to Al in photosynthetic tissues, it is possible that Al is associated (positively) to photosynthetic processes. Here, we used seedlings of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) Mart., an Al-accumulating tree species from the Cerrado vegetation, which grew in a nutrient solution with increasing Al concentrations (0, 740 and 1480 μM Al) for 60 days. We measured CO_2 assimilation (A) in response to mesophilic intercellular CO_2 concentration (A/C_i curves), every 15 days. The highest concentration of Al in the nutrient solution increased gas exchange rates and enhanced the root growth leading to an increase in the apparent carboxylation efficiency of the Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) enzyme. We conclude the absence of Al impair the root growth of *Q. grandiflora*, compromising root water uptake and, consequently, mesophyll hydration. This changes CO_2 assimilation rates and Rubisco efficiency.

Keywords: Al^{3+} ; Al-accumulating species; Cerrado; A/C_i curves; Vochysiaceae.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	OBJETIVO.....	11
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1	Material vegetal e condições experimentais.....	12
3.2	Solução nutritiva... ..	12
3.3	Desenho experimental... ..	13
3.4	Variáveis medidas.....	13
3.4.1	<i>Trocas gasosas foliares.....</i>	13
3.4.2	<i>Concentração de Al nos órgãos.....</i>	14
3.4.3	<i>Análise dos dados.....</i>	14
4	RESULTADOS... ..	15
4.1	<i>Medidas de trocas gasosas.....</i>	15
4.2	<i>Concentração de Al nos órgãos.....</i>	16
5	DISCUSSÃO... ..	18
6	CONCLUSÕES.....	20
	REFERÊNCIAS... ..	21

1 INTRODUÇÃO

O alumínio (Al) é o terceiro elemento químico mais presente na crosta terrestre, podendo se apresentar de diferentes formas químicas, dependendo do tipo de solo (Von Uexküll & Mutttert, 1995). Os solos ácidos ($\text{pH} < 5.0$), por exemplo, representam quase a metade dos solos terrestres, incluindo solos agricultáveis, onde o Al pode ser encontrado como $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ ou, mais comumente, em sua forma tóxica Al^{3+} (Haridasan, 2008).

Quando presente no solo, o Al tóxico pode diminuir o desenvolvimento das plantas (Vitarello et al., 2005). Um dos sintomas mais conspícuos da toxicidade por Al é a redução no crescimento das raízes (Horst et al., 2010). Contudo, o Al também pode provocar sintomas descritos como *'indiretos'* na parte aérea (uma vez que o primeiro contato do Al com a planta é pela raiz), como a redução no crescimento dos ramos, baixa assimilação de CO_2 e do desempenho fotoquímico (Vitarello et al., 2005; Kopittke et al., 2015; Bressan et al., 2021).

Apesar disso, algumas espécies são capazes de acumular Al em suas folhas sem apresentar quaisquer sintomas de toxicidade (Haridasan, 1982), sendo consideradas acumuladoras de Al, especificamente se acumulam mais de 1000 mg Al por kg de folha seca (Chenery, 1948; Jansen et al., 2002). Tais espécies ocorrem em diversas partes do mundo, mas na América do Sul, a vegetação do Cerrado cresce e se desenvolve em solos ácidos ($\text{pH} < 5,0$) e com saturação por Al (m%) acima de 60% (Haridasan, 1982; Nogueira et al., 2019). Desta forma, a flora lenhosa desta vegetação apresenta mecanismos adaptativos para superar a toxicidade ao Al, em que as espécies acumuladoras e não acumuladoras de Al coexistem nesta vegetação (Haridasan, 2000; Haridasan, 2008). Um exemplo de espécie lenhosa do Cerrado acumuladora de Al é *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) Mart. que pode acumular cerca de 5000 mg Al kg^{-1} folhas secas (Haridasan, 1982; Nogueira et al., 2019).

Diversos pesquisadores tentam compreender a função fisiológica do Al em plantas acumuladoras. Andrade et al., (2011) encontraram resultados positivos de indicadores histoquímicos (aluminon) de Al em cloroplastos de espécies de Vochysiaceae acumuladoras de Al no Cerrado, sugerindo que o Al possa ter algum papel ainda não identificado nos processos fotossintéticos. Em *Rudgea virbunoides* (Rubiaceae), também acumuladora de Al no Cerrado, foi evidenciada a presença de

Al em cloroplastos (Malta et al., 2016). Por outro lado, Bressan et al. (2016) não observaram reações histoquímicas positivas entre indicadores da presença de Al (Cromo Azurol S e hematoxylina) no parênquima clorofiliano de folhas de espécies de Melastomataceae e Vochysiaceae, acumuladoras de Al no Cerrado. Bressan et al. (2021) demonstraram que plantas de *Vochysia tucanorum*, outra espécie arbórea acumuladora de Al do Cerrado, tiveram seu crescimento e desenvolvimento comprometido quando cultivadas em solução nutritiva ausente em Al. Neste estudo, as raízes mostraram-se necróticas e folhas cloróticas que entraram em abscisão. Logo, é possível que os prováveis “efeitos positivos” do Al no processo fotossintético sejam também ‘indiretos’. Embora existam essas evidências da presença do Al em tecidos fotossintetizantes (Andrade et al., 2011; Malta et al., 2016), não existem estudos que tenham testado a interferência do Al nas respostas fotossintéticas de plantas acumuladoras de Al do Cerrado.

2 OBJETIVO

Cultivar mudas de *Qualea grandiflora* em solução nutritiva com concentrações crescentes de Al (0, 740 e 1480 μM Al) e medir curvas de assimilação de CO_2 em resposta à variação da concentração mesofílica intercelular de CO_2 (curvas A/C_i) para testar a seguinte hipótese:

- Plantas de *Q. grandiflora* aumentam a eficiência aparente de carboxilação da enzima Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) em resposta a concentrações crescentes de Al na solução nutritiva.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições experimentais

Foram utilizadas 96 plantas de *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) com aproximadamente $8 \pm 0,6$ cm de altura e com $6 \pm 0,5$ de folhas, de quatro meses de idade. As plantas foram obtidas no viveiro de mudas nativas do Cerrado, Carobinha, localizado em São Simão, SP, por meio de semeadura diretamente em solo de Cerrado.

Após a retirada das mudas das sacolas plásticas, suas raízes foram lavadas em água corrente de torneira para remoção de partículas de solo remanescentes. Em seguida, tiras de espuma de poliuretano foram enoveladas ao redor do colo das plantas e estas foram fixadas em orifícios com 2 cm de diâmetro feitos em placas de Isopor® de 50 x 30 cm com 2 cm de espessura. As placas, com oito plantas cada, flutuaram e cresceram sobre a solução nutritiva (aeradas com auxílio de compressores de ar) dentro de caixas plásticas opacas de 20L (50 x 30 x 15 cm) durante 60 dias de experimento.

As caixas foram mantidas em bancadas a 1,20 m do solo e permaneceram em casa-de-vegetação, com temperatura de $26,2 \pm 2$ °C e umidade relativa de $62,1 \pm 3,5$ %, condições que foram semi-controladas por bomba PAD e ventiladores umidificadores. A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) na casa-de-vegetação foi de $784,4 \pm 102,9$ $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ entre as 9:00 e 11:30 h e fotoperíodo natural de 12 h até o final do experimento.

3.2 Solução nutritiva

A solução nutritiva utilizada no experimento foi adaptada de Furlani & Furlani (1988) que possui sua composição química baseada na solução de Clark (1975). Foi constituída da seguinte maneira: 196.11 μM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 72.43 μM NH_4NO_3 , 32.06 μM KCl , 32.46 μM K_2SO_4 , 31.23 μM KNO_3 , 69.03 μM $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, 4.3 μM KH_2PO_4 , 3.72 μM FeSO_4 , 3.4 μM NaEDTA , 0.5 μM MnCl_2 , 1.41 μM H_3BO_3 , 0.13 μM ZnSO_4 , 0.03 μM CuSO_4 e 0.06 μM NaMoO_2 . Tendo assim, a seguinte concentração final de macronutrientes (em mM): N (NO_3^-) 0.137; N (NH_4^+) 0.058; P, 0.019; K, 0.123; Ca, 0.204; Mg, 0.047; S, 0,031; e micronutrientes (em μM): Cl, 30.58; Fe (EDTA), 3.32; B, 1.19; Mn, 0.41; Zn, 0.10; Cu, 0.04 e Mo, 0.04. Esta solução já foi utilizada para

estudos de espécies nativas do Cerrado acumuladoras de Al, e as plantas não apresentaram nenhum sintoma de deficiência nutricional (Bressan et al., 2021).

Para manter o Al o mais solúvel possível para as plantas, o pH da solução foi monitorado diariamente e mantido em $4,0 \pm 0,1$ em todos os três tratamentos. A solução foi trocada totalmente a cada 15 dias. Os tratamentos com Al, 740 e 1480 μM Al resultaram em 659 ± 89 e 1234 ± 81 μM Al, respectivamente.

3.3 Desenho experimental

Noventa e seis plantas de *Q. grandiflora* foram transferidas para as caixas contendo solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al, onde cresceram por 60 dias. Foram utilizadas 8 repetições (8 plantas por caixa) e 4 datas de avaliação (1, 15, 30, e 60 dias após a transferência — DAT). Nessas datas, foram avaliadas taxas de trocas gasosas e a eficiência aparente de carboxilação da Rubisco (curvas A/C_i). Ao final do experimento (60 DAT) foi medida a concentração de Al nos órgãos (raiz, caule e folha).

3.4 Variáveis medidas

3.4.1 Trocas gasosas foliares

As medições das taxas de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração intercelular de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$), foram realizadas em quatro plantas por tratamento utilizando-se um sistema aberto portátil de medição de trocas gasosas por infravermelho (IRGA ou “infrared gas analyzer” – LI-6400xt, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). A concentração de CO_2 utilizada na câmara de medidas foi ajustada para 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (concentração atual de CO_2 na atmosfera no local experimental) conforme fornecido pelo misturador de CO_2 6400-01 (LI-COR). As medições foram feitas em dias sem nuvens, entre 9h e 11:30 h. A DFFFA foi fornecida por uma fonte de luz LED (6400-40 LCF, LI-COR), com espectro 90 % vermelho e 10 % azul, que foi configurada para fornecer 1200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O d\u00e9ficit de press\u00e3o de vapor (VDP) dentro da c\u00e2mara de medidas foi de 1,5 kPa e a umidade relativa de aproximadamente 60–65%, pr\u00f3ximo \u00e0s condi\u00e7\u00f5es da casa-de-vegeta\u00e7\u00e3o.

As curvas A/C_i foram obtidas medindo-se A em resposta a diferentes concentrações de CO_2 na câmara de medidas do IRGA: 400, 300, 200, 100, 50, 25, 400, 600, 800, 1000 e 1200 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, de acordo com Silva et al. (2018).

3.4.2 Concentração de Al nos órgãos

As amostras (4 por tratamento) coletadas ao final do experimento (60 DAT) foram secas em estufa de circulação forçada de ar, à 60 °C, e enviadas para análise de determinação total de Al nos tecidos, no Laboratório de Nutrição de Plantas do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Campinas, SP. Para isso, as amostras foram moídas e digeridas em solução de ácidos sulfúrico:nítrico:perclórico (1:10:2, v/v/v), de acordo com Sarruge & Haag (1974). O total de Al foi determinado com o uso de um espectrofotômetro de absorção atômica e expresso em mg de Al por kg de tecido vegetal seco.

3.4.3 Análise dos dados

Foram estudadas como causas de variação as diferentes concentrações de Al na solução (0, 740 e 1480 $\mu\text{M Al}$), em cada época de avaliação (1, 15, 30 e 60 DAT). As respostas (curvas A/C_i) foram obtidas ao acaso, utilizando-se quatro repetições (plantas) por tratamento. Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos dados. Os dados foram submetidos à análise de variância (one-way ANOVA), e as diferenças na eficiência aparente de carboxilação da enzima Rubisco foram testadas entre as diferentes concentrações de Al em cada época, e na concentração de Al nos órgãos somente aos 60 DAT. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05\%$) para verificar diferenças entre os tratamentos em cada época de avaliação.

4 RESULTADOS

4.1 Medidas de trocas gasosas

A partir dos 30 DAT, as plantas não tratadas com alumínio mostraram redução significativa nas taxas de trocas gasosas quando comparadas às plantas tratadas com Al. Aos 60 DAT, as plantas não expostas ao Al mostraram redução de 72% na assimilação de CO₂ (A) (Fig. 1A), 71% na condutância estomática (*gs*) (Fig. 1B) e 60% na taxa de transpiração (*E*) (Fig. 1C) em comparação às plantas expostas ao Al.

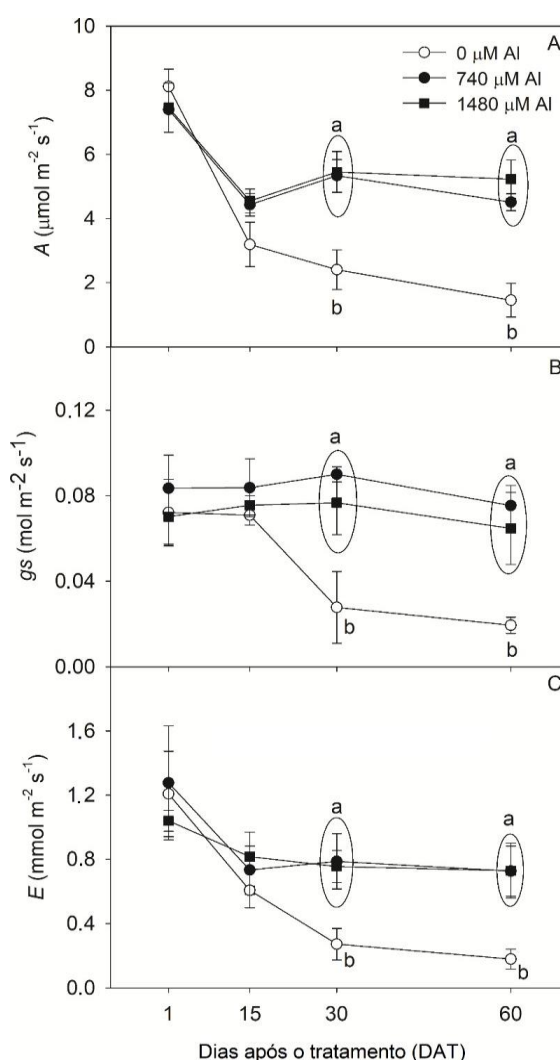


Figura 1. Valores médios ($n = 4$) da assimilação de CO₂ (A), condutância estomática (B) e taxa de transpiração (C) aos 1, 15, 30 e 60 dias após o tratamento (DAT) em plantas de *Q. grandiflora* em solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al. Para cada época de avaliação, letras diferentes apontam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Barras representam o erro padrão.

A partir dos 15 DAT, as plantas não expostas ao Al mostraram queda na eficiência aparente de carboxilação da Rubisco em relação às plantas expostas a 1480 μM Al e, a partir dos 30 DAT, em relação a ambos os tratamentos com Al (Tabela 1). A partir dos 15 DAT, a curva A/C_i das plantas não expostas ao Al começa a se distanciar das curvas das plantas expostas ao Al (Fig. 2C). Nesta mesma época de avaliação, a porção linear da curva das plantas não expostas ao Al encontra-se mais “deitada”, em relação às plantas expostas ao Al (Fig. 2D), ratificando a menor eficiência aparente de carboxilação da Rubisco dessas plantas. Ao final do experimento (60 DAT), a eficiência aparente de carboxilação em plantas não tratadas com Al foi 71% menor em comparação às plantas tratadas com 740 μM Al, e 75% menor em relação àquelas tratadas com 1480 μM Al (Tabela 1). Além disso, nesta mesma época (60 DAT), o perfil da curva A/C_i das plantas expostas e não expostas ao Al diferenciaram-se significativamente (Fig. 2G) e a porção linear dessas curvas seguem a mesma diferenciação significativa (Fig. 2H).

Tabela 1. Valores médios ($n = 4 \pm$ erro padrão) da eficiência de carboxilação aparente da enzima Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) de plantas aos 1, 15, 30 e 60 dias após o tratamento (DAT) em plantas de *Q. grandiflora* em solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al.

	Eficiência aparente de carboxilação ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		
	0 μM Al	740 μM Al	1480 μM Al
1 DAT	0,0342 $\pm$ 0.00 a	0,0312 $\pm$ 0.00 a	0,0421 $\pm$ 0.00 a
15 DAT	0,0045 $\pm$ 0.00 a	0,0158 $\pm$ 0.00 ab	0,0252 $\pm$ 0.00 b
30 DAT	0,0069 $\pm$ 0.00 a	0,0180 $\pm$ 0.00 b	0,0155 $\pm$ 0.00 b
60 DAT	0,0034 $\pm$ 0.00 a	0,0136 $\pm$ 0.00 b	0,0118 $\pm$ 0.00 b

Para cada época de avaliação (linhas), letras diferentes apontam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

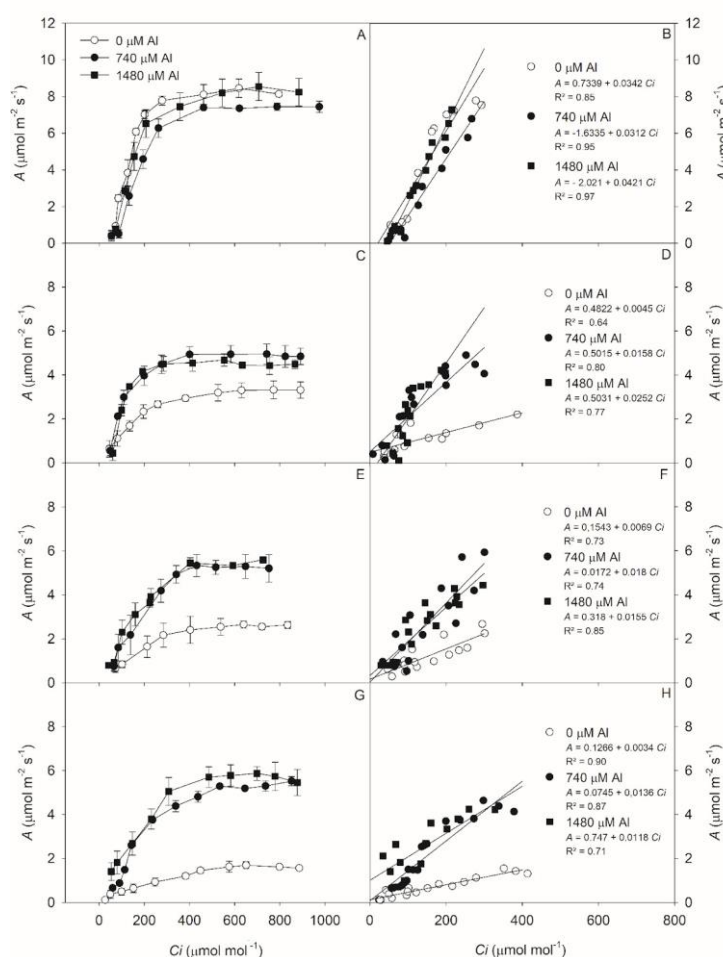


Figura 2. Valores médios ($n = 4$) da assimilação de CO₂ (A) em resposta à concentração intercelular de CO₂ (Ci), (curvas A/Ci) (A, C, E e G) e porção linear das curvas (inclinação da curva representando a eficiência aparente de carboxilação da enzima Rubisco) (B, D, F e H) de plantas de *Q. grandiflora* em solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al, aos 1 (A e B), 15 (C e D), 30 (E e F) e 60 dias (G e H) após o tratamento (DAT). Barras representam o erro padrão.

4.2 Concentração de Al nos órgãos

A concentração de Al nos órgãos das plantas submetidas aos diferentes tratamentos apresentaram variação de 1.500 a 6.000 mg kg⁻¹ (Fig. 3). Em todos os tratamentos, as raízes e folhas mostraram mais Al que nos caules (Fig. 3). As folhas das plantas expostas à 1480 μM Al mostraram 38% a mais de Al em relação às folhas daquelas expostas à 740 μM Al, que mostraram 22% a mais de Al em relação às folhas daquelas não expostas ao Al (Fig. 3). As raízes das plantas tratadas com 740 e 1480 μM Al mostraram, respectivamente, duas e quatro vezes mais Al em comparação às plantas não tratadas com Al. Para o caule, houve diferenciação somente entre plantas expostas (+54%) e não expostas ao Al (Fig. 3). Portanto, de forma geral, quanto mais Al na solução nutritiva maior a concentração de Al nos órgãos, sobretudo nas raízes e folhas.

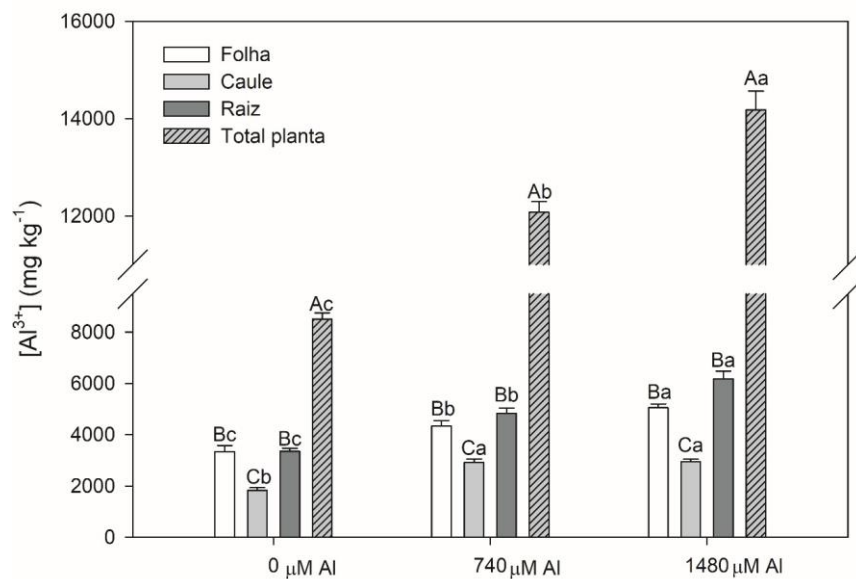


Figura 3. Valores médios ($n = 4$) da concentração de Al na raiz, caule e folha e em toda a planta de *Q. grandiflora* cultivada em solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al por 60 dias. Para cada tratamento, letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os órgãos e, para cada órgão, letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Barras representam o erro padrão.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, os parâmetros de trocas gasosas (Fig. 1), as curvas A/C_i (Fig. 2A, 2C, 2E, 2G), o coeficiente angular (inclinação) da porção linear das curvas A/C_i (Fig. 2B, 2D, 2F, 2H) e a eficiência aparente de carboxilação (Tabela 1) foram significativamente reduzidos nas plantas não expostas ao Al. A partir dos 15 DAT, o achatamento da curva A/C_i em plantas não tratadas com Al (Fig. 2C), indicou menor valores de A em plantas não expostas ao Al. Concomitantemente, o menor coeficiente angular (menor inclinação) da porção linear das curvas A/C_i em plantas não expostas ao Al evidenciado a partir dos 15 DAT reflete a menor eficiência de carboxilação aparente da enzima Rubisco nestas plantas (Tabela 1). Portanto, a conclusão mais imediata seria que as plantas expostas ao Al tiveram incremento da eficiência de carboxilação aparente da enzima Rubisco, sugerindo a interferência do Al nos processos de fixação do carbono em espécies acumuladoras, como sugerido a partir de evidências de reações histoquímicas positivas entre o Al e cloroplastos de outras espécies acumuladoras de Al do Cerrado (Andrade et al. 2011; Malta et al. 2016). Maiores valores de A e desempenho fotoquímico em plantas de *Vochysia tucanorum* em solução nutritiva com Al em comparação às não expostas ao Al já foram observados (Bressan et al. 2021). Isso reforça que espécies acumuladoras de Al podem apresentar aparatos fotossintéticos mais saudáveis se tratadas com Al.

Entretanto, tanto no presente estudo com *Q. grandiflora*, como no de Bressan et al. (2021) com *V. tucanorum*, houve indícios de que o efeito positivo do Al sobre os processos fotossintéticos não parece ser direto. Em nosso estudo, observamos redução da biomassa vegetal e necrose das raízes de plantas não tratadas com Al em comparação às plantas tratadas com Al, que mostraram raízes saudáveis e em maior quantidade (dados não mostrados — que fazem parte de estudo maior, objeto de publicação em periódico científico internacional). No estudo de Bressan et al. (2021), as maiores taxas de trocas gasosas de *V. tucanorum* expostas ao Al também foram associadas a condições radiculares mais saudáveis e crescimento normal do sistema radicular, enquanto as plantas não expostas ao Al mostraram necrose de raízes dentro de sete dias.

O Al já foi demonstrado estar associado ao desenvolvimento normal de raízes de *Camellia sinensis* (Theaceae) (Sun et al. 2020), outra espécie dependente do Al. Em outro estudo com *Q. grandiflora*, já se evidenciou que o sucesso do

desenvolvimento de suas raízes depende fortemente do Al (Cury et al., 2020). Logo, o crescimento e o desenvolvimento normal das raízes de plantas acumuladoras de Al devem ser considerados nas respostas de trocas gasosas e qualquer evidência de possível efeito positivo do Al nas respostas fotossintéticas.

Os maiores valores de g_s a partir dos 30 DAT para plantas expostas ao Al, em relação às não expostas (Fig. 1B) estão associados à maior hidratação do mesófilo, uma vez que g_s está funcionalmente ligado à hidratação foliar (Chaves et al. 2002). Logo, plantas com raízes mais saudáveis, foram possivelmente mais hidratadas, o que proporcionou aumento nos valores de g_s e assimilação de CO_2 a partir dos 30 DAT (Fig. 2), e isso pode muito provavelmente ter auxiliado no aumento da eficiência aparente da enzima Rubisco nas plantas tratadas com Al. A deficiência hídrica pode diminuir a produtividade das plantas, uma vez que o fechamento estomático reduz o influxo de CO_2 e, conseqüentemente, a concentração intracelular de CO_2 (C_i), limitando a carboxilação pela Rubisco (Carmo-Silva et. al 2012).

Os três tratamentos (0, 740 e 1480 μM Al) induziram elevada concentração de Al em todos os órgãos (Fig. 3). As elevadas concentrações de Al observadas nos órgãos das plantas não expostas ao Al se justificam porque a espécie utilizada é uma acumuladora de Al que até o momento da transferência para a solução nutritiva se desenvolveu em solo do Cerrado, com pH ácido e alta saturação por Al, como descrito no material e métodos do presente trabalho. Já as plantas tratadas com Al acumularam maiores concentrações em resposta ao aumento da disponibilidade de Al na solução nutritiva. Essa resposta já era esperada porque trata-se de uma espécie acumuladora de Al do Cerrado (Haridasan, 1982) que pode acumular até 5000 mg de Al kg^{-1} de folha seca (Sun et al, 2020; Haridasan, 1982). De maneira geral, pode-se notar que a concentração de Al foi tanto maior em todos os órgãos quanto mais Al disponível havia na solução nutritiva. Isso sugere que *Q. grandiflora* se beneficia deste metal, mas tal benefício não parece estar relacionado com os efeitos diretos do Al nos processos fotossintéticos, como discutido acima.

6 CONCLUSÕES

A proposta deste estudo foi investigar se o Al interfere diretamente nas respostas de assimilação de CO₂ e na performance da enzima Rubisco. Observamos que as plantas de *Qualea grandiflora* aumentaram a eficiência aparente de carboxilação da Rubisco em concentrações crescentes de Al na solução nutritiva e que sua presença na solução foi importante para a manutenção das raízes dessas plantas.

Entretanto, a presença de Al não parece ter tido influência direta na atividade da Rubisco. Isso porque os maiores valores de A e performance da enzima Rubisco parecem estar associadas ao crescimento normal do sistema radicular, que possibilitou hidratação foliar adequada e abertura estomática para influxo de CO₂.

Ainda não se conhece o papel fisiológico do Al nas espécies acumuladoras deste metal, mas o Al não parece ter papel direto nos processos fotossintéticos dessas espécies.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, L.R.M.; BARROS, L.M.G.; ECHEVARRIA, G.F.; AMARAL, L.I.V.; COTTA, M.G.; ROSSATTO, D.R.; HARIDASAN, M.; FRANCO, A.C. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. **Environmental and Experimental Botany**, 70:37–42, 2011.

BRESSAN, A.C.G.; COAN, A.I.; 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, A.C.G.; BITTENCOURT, B.M.O.; SILVA, G.S.; 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.

CARMO-SILVA, A.E.; GORE, M.A.; ANDRADE-SANCHEZ, P.; FRENCH, A.N.; HUNSAKER, D.J.; SALVUCCI, M.E. Decreased CO₂ availability and inactivation of Rubisco limit photosynthesis in cotton plants under heat and drought stress in the field. **Environ Exp Bot** 83: 1–11, 2012.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSÓRIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth, **Annals of Botany**, Volume 89, Issue 7, Pages 907–916, 2002.

CHENERY, E.M. Aluminium in the plant world. Part I: general survey in dicotyledons. **Kew Bulletin**, 3:173–183, 1948.

CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, 23:458–460, 1975.

CURY, N.F.; SILVA, R.C.C.; ANDRE, M.S.F.; FONTES, W.; RICART, C.A.O.; CASTRO, M.S.; SILVEIRA, C.E.S.; WILLIAMS, T.C.R.; SOUSA, M.V.; PEREIRA L.A.R. Root proteome and metabolome reveal a high nutritional dependency of aluminium in *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). **Plant Soil** 446:125–143, 2020.

FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R. Composição e pH de soluções nutritivas para estudos fisiológicas e seleção de plantas em condições adversas. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo**, Campinas, n. 121, p. 21-26, 1988.

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

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12:54–64, 2000.

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

HORST, W.J.; 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. **Annals of Botany**, 106:185–197, 2010.

JANSEN, S.; BROADLEY, M.R.; ROBBRECHT, E.; SMETS, E. Aluminum hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. **The Botanical Review**, 68:235–269, 2002.

KOPITTKKE, 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. Identification of the Primary Lesion of Toxic Aluminum in Plant Roots. **Plant Physiology**, 167:1402–1411, 2015.

MALTA, P.G.; SILVA, A.S.; RIBEIRO, C.; CAMPOS, N.V.; AZEVEDO, A.A. *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, 2016.

NOGUEIRA, M.A.; BRESSAN, A.C.G.; PINHEIRO, M.H.O.; HABERMANN, G. Aluminum-accumulating Vochysiaceae species growing on a calcareous soil in Brazil. **Plant and Soil** 437:313–326, 2019.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. Análises químicas em Plantas. **E.S.A. "Luiz de Queiroz"**, Livroceres Ltda., Piracicaba, SP, 1974.

SILVA, G.S.; GAVASSI, M.A.; NOGUEIRA, M.A.; HABERMANN, G. Aluminum prevents stomatal conductance from responding to vapor pressure deficit in *Citrus limonia*. **Environmental and Experimental Botany**, 155:662–671, 2018.

SUN, L.; ZHANG, M.; LIU, X.; MAO, Q.; SHI, C.; KOCHIAN, L.V.; LIAO, H. Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*). **J Integr Plant Biol** 62(7):984–997, 2020.

VITORELLO, V.A.; CAPALDI, F.R.; STEFANUTO, V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 17:129–143, 2005.

VON UEXKÜLL, H.R., MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. In: Date, R.A. (ed) **Plant soil interactions at low pH: Principles and Management**, pp. 5–19. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995.