

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 30/09/2024.



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

INTERFERÊNCIA DO ALUMÍNIO NA HIDRATAÇÃO DA PARTE AÉREA EM
Citrus x limonia E NO DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO EM *Ilex paraguariensis* e
Qualea grandiflora

GISELLE SCHWAB SILVA

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

**INTERFERÊNCIA DO ALUMÍNIO NA HIDRATAÇÃO DA PARTE AÉREA EM
Citrus x limonia E NO DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO EM *Ilex paraguariensis* e
*Qualea grandiflora***

GISELLE SCHWAB SILVA

**ORIENTADOR: PROF. DR. GUSTAVO HABERMANN
COORDENADORA: PROF^a DR^a MARINA ALVES GAVASSI**

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)

S586i Silva, Giselle Schwab
Interferência do alumínio na hidratação da parte aérea em Citrus x
limonia e no desempenho fotossintético em Ilex paraguariensis e
Qualea grandiflora / Giselle Schwab Silva. -- Rio Claro, 2022
119 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Gustavo Habermann
Coorientadora: Marina Alves Gavassi

1. Toxicidade ao Al. 2. Relações hídricas. 3. Plantas nativas do
Cerrado acumuladoras de Al. 4. Trocas gasosas. 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: Interferência do alumínio na hidratação da parte aérea em *Citrus x limonia* e no desempenho fotossintético em *Ilex paraguariensis* e *Qualea grandiflora*

AUTORA: GISELLE SCHWAB SILVA

ORIENTADOR: GUSTAVO HABERMANN

COORDINADORA: MARINA ALVES GAVASSI

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)
Departamento de Isótopos Estáveis / Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP

Profa. Dra. NEIDIQUELE MARIA SILVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Botânica / UNESP/IBRC

Profa. Dra. ANA SILVIA FRANCO PINHEIRO MOREIRA (Participação Virtual)
Instituto de Biomedicina/Instituto de Biologia/Universidade Federal de Uberlândia

Profª. Drª. PATRÍCIA CARLA GILONI DE LIMA (Participação Virtual)
Biologia - Campus CEDETEG - Laboratório de Ecotoxicologia / Universidade Estadual do Centro-Oeste - Unicentro

Rio Claro, 30 de setembro de 2022

O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.

Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Soeli e Jackson, por todo amor, carinho e dedicação, por sempre acreditarem em mim quando eu mesma duvidei e por se fazerem presente mesmo longe. Fica aqui todo o meu amor por vocês.

Aos meus queridos e amados irmãos Jackeline e Victor, pela amizade, companheirismo e também por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos.

Ao meu companheiro de vida, Matheus, por ter enfrentado essa jornada ao meu lado. Agradeço sempre pela oportunidade em compartilhar minha vida com você. Muito obrigada por toda a ajuda, apoio e paciência. Amo você!

Ao meu orientador Gustavo, por todo o incentivo, ajuda, dedicação e paciência. Você é uma grande inspiração de professor e orientador, agradeço imensamente por todos os aprendizados que com certeza levarei para sempre comigo.

A minha coorientadora Marina, pela amizade, apoio e parceria ao longo do doutorado.

Aos amigos do grupo de pesquisa, Marina, Anna, Brenda, Matheus, Luá e Juliana, pelas conversas, apoios e incentivos ao longo dessa caminhada.

As minhas queridas amigas Vanessa e Sandy, que mesmo distante sempre se fazem presente. Obrigada por estarem ao meu lado nos momentos de conquistas e também nas dificuldades.

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

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

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

Agradeço ao financiamento através do processo nº 2018/25658-2, 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.

SUMÁRIO

Resumo	vi
Abstract	vii
INTRODUÇÃO GERAL	8
Referências	13

CAPÍTULO I: High abscisic acid and low root hydraulic conductivity may explain low leaf hydration in ‘Mandarin’ lime exposed to aluminum

18

Abstract	19
Introduction	20
Material and methods	22
<i>Experimental design</i>	<i>23</i>
<i>Sap flow measurements (estimated gs)</i>	<i>24</i>
<i>Plant water relation.....</i>	<i>25</i>
<i>ABA, PA and DPA quantification.....</i>	<i>27</i>
<i>Biometric data and biomass</i>	<i>28</i>
<i>Al concentration in plant organs</i>	<i>29</i>
<i>Data analysis</i>	<i>29</i>
Results.....	30
<i>Plant biometric data and biomass</i>	<i>30</i>
<i>Plant water relation.....</i>	<i>30</i>
<i>ABA accumulation in leaves and roots.....</i>	<i>32</i>
<i>Al concentration in plant organs</i>	<i>32</i>
Discussion	33
<i>The role of ABA and its metabolites in Al-induced decrease in leaf hydration</i>	<i>34</i>
Conclusion	37
Acknowledgements	37
References.....	38
Figures	43
Supplementary material	52

CAPÍTULO II: Aluminum improves root growth and photosynthetic performance in *Ilex paraguariensis*.....

54

Abstract	55
Introduction	56
Material and methods	58
<i>Plant material and experimental conditions</i>	<i>58</i>
<i>Experimental design</i>	<i>59</i>
<i>Photosynthetic parameters</i>	<i>59</i>
<i>Leaf water potential and relative leaf water content.....</i>	<i>60</i>
<i>Biometric parameters</i>	<i>61</i>
<i>Quantification of free IAA (indole-acetic acid).....</i>	<i>61</i>
<i>Aluminum concentration in plant organs</i>	<i>62</i>
<i>Data analysis</i>	<i>62</i>
Results.....	63
<i>Biometric parameters</i>	<i>63</i>
<i>Effect of Al on root IAA contents</i>	<i>63</i>
<i>Photosynthetic parameters</i>	<i>64</i>
<i>Leaf water potential and relative water content.....</i>	<i>64</i>
<i>Aluminum concentration in plant organs</i>	<i>65</i>
Discussion	65
Conclusion	70
Acknowledgements	70
References.....	72
Figures	78

CAPÍTULO III: No direct effect of aluminum (Al) on the Rubisco performance of *Qualea grandiflora*, an Al-accumulating species from the Brazilian savanna

Abstract	89
Introduction	90
Material and methods	92
<i>Plant material and experimental condition</i>	<i>92</i>
<i>Nutrient solution</i>	<i>93</i>
<i>Experimental design</i>	<i>93</i>
<i>Leaf gas exchange and apparent carboxylation efficiency</i>	<i>94</i>

<i>Relative leaf water content</i>	95
<i>Biometric parameters</i>	95
<i>Aluminum concentration in plant organs</i>	95
<i>Data analysis</i>	96
Results	96
<i>Biometric parameters</i>	96
<i>Relative leaf water content (RWC)</i>	97
<i>Leaf gas exchange and apparent carboxylation efficiency</i>	97
<i>Aluminum concentration in plant organs</i>	98
Discussion	99
Acknowledgements	102
References	103
Tables	108
Figures	109
CONSIDERAÇÕES FINAIS	119

Resumo

Em espécies sensíveis ao Al, o primeiro sintoma de toxicidade a este elemento é a redução no crescimento da raiz. Esta inibição no crescimento tem sido associada a reduções na hidratação foliar, que por sua vez afeta negativamente a performance fotossintética, reduzindo a condutância estomática (g_s). Em contrapartida, algumas plantas são capazes de crescer bem em solos com elevada disponibilidade de Al e algumas delas são capazes de acumular grandes quantidades de Al em seus tecidos (acumuladoras de Al), sem apresentar sintomas de toxicidade. No presente trabalho, para testar diferentes hipóteses em relação ao Al, utilizamos três espécies, uma sensível (*Citrus x limonia*), uma tolerante (*Ilex paraguariensis*) e uma acumuladora de Al (*Qualea grandiflora*). Todos os experimentos foram realizados por 60 dias em solução nutritiva. Plantas de *C. x limonia* foram expostas a 0 e 1480 μM Al para avaliar se reduções na hidratação foliar ocorrem antes ou depois da inibição no crescimento da raiz. Aqui evidenciamos reduções em g_s logo aos 3 dias de exposição ao Al e isto foi acompanhado de maior concentração do hormônio ácido abscísico (ABA) nas folhas. Reduções significativas no crescimento da raiz foram observadas aos 30 dias. Logo, reduções nos parâmetros hídricos e hidráulicos, em plantas expostas ao Al ocorreram bem antes da inibição no crescimento da raiz. Plantas de *I. paraguariensis* foram expostas a 0, 500, 1000 e 1500 μM Al para testar se o Al induz o crescimento com consequente melhora na performance fotossintética. Plantas expostas a 500 e 1000 μM Al apresentaram maior crescimento e biomassa em relação às plantas crescendo sem Al. A ausência de Al comprometeu o crescimento da raiz, reduziu a hidratação foliar e resultou em diminuição na performance fotossintética. Mudanças de *Q. grandiflora* foram expostas a 0, 740 e 1480 μM Al a fim de verificar se o Al na solução nutritiva aumenta a assimilação de CO_2 devido a uma melhor eficiência aparente de carboxilação da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco). Neste experimento evidenciamos que plantas expostas aos dois tratamentos com Al apresentaram melhor desenvolvimento de raiz e maiores taxas de trocas gasosas devido a uma maior eficiência aparente de carboxilação da Rubisco. Porém essa maior eficiência da Rubisco está mais associada à melhor hidratação das folhas e trocas gasosas do que a algum efeito direto do Al sobre a performance da enzima. A ausência de Al tornou as raízes destas plantas necróticas, disfuncionais e, consequentemente, menor hidratação das folhas foi observada.

Palavras-chave: Al^{3+} ; fluxo de seiva; trocas gasosas; relações hídricas; Rubisco;

Abstract

In sensitive plants, inhibition of root elongation is the first symptom of Al toxicity. This inhibition has been associated with low leaf hydration, with negative consequences for leaf gas exchange, including stomatal conductance (g_s). On the other hand, some plants are able to grow well on acidic soils with high Al available, and some of this species accumulating high Al in their tissues (Al-accumulators), without showing toxicity symptoms. Therefore, in the present work, to test different hypotheses in relation to Al, we used three different species, a sensitive to Al (*Citrus x limonia*), a tolerant to Al (*Ilex paraguariensis*) and an Al accumulator (*Qualea grandiflora*). All the experiments were realized for 60 days in the nutrient solution. Plants of *C. limonia* were exposed to 0 and 1480 μM Al to evaluate whether low leaf hydration occurs before or after the inhibition of root growth. Lower g_s was observed after 3 days and was associated to a high concentration of abscisic acid (ABA) in leaves of plants exposed to Al. Root growth inhibition was evidenced at 30 days in plants exposed to Al and this occurred after hydric and hydraulic parameters are affected by Al. Plants of *I. paraguariensis* were exposed to 0, 500, 1000 and 1500 μM Al to test whether Al improves growth with consequently increases in the photosynthetic performance in this species. Improvements in biometric and biomass parameters were observed for plants exposed to 500 and 1000 μM Al in relation to those not exposed to Al. The absence of Al affects the root growth, that consequently reduced the leaf hydration and photosynthetic performance. Seedlings of *Q. grandiflora* were exposed to 0, 740 and 1480 μM Al to test whether the Al increases the carbon assimilation through enhanced apparent carboxylation efficiency of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). Plants exposed to both Al treatments showed new white roots, increased root biomass and apparent carboxylation efficiency was higher in these plants. However, this higher efficiency is more associated with better leaf hydration and gas exchange rates instead the direct effect of Al in Rubisco performance. On the other hand, plants not exposed to Al showed no root growth, necrotic roots, and low gas exchange rates with decreased apparent carboxylation efficiency.

Key words: Al³⁺; sap flow; gas exchange rates; water relations; Rubisco

INTRODUÇÃO GERAL

O alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante da crosta terrestre (von Uexküll and Mutert, 1995) e ocorre naturalmente no solo nas formas não tóxicas de óxidos e aluminossilicatos. Entretanto, em solos ácidos ($\text{pH} < 5.0$) esses minerais são solubilizados e formas potencialmente tóxicas são liberadas para o solo (Singh et al., 2017). Dentre estas formas tóxicas, o $\text{Al}(\text{OH})_6^{3+}$, também conhecido como Al^{3+} , é considerado a forma mais tóxica para a grande maioria das plantas (Kochian 1995; Horst et al., 2010). Uma vez que aproximadamente 30% das áreas livres de geleiras do mundo são constituídas de solos ácidos (von Uexküll and Mutert, 1995), o Al é um dos principais fatores abióticos que pode interferir no crescimento de plantas sensíveis e tolerantes ao redor do mundo.

Em plantas sensíveis, um dos primeiros e mais conhecidos sintomas de toxicidade ao Al é a rápida inibição no crescimento da raiz (Kopittke et al. 2008; Horst et al. 2010; Silva et al. 2019) que pode ser detectado em poucas horas de exposição ao Al (Kopittke et al., 2008). O Al pode se ligar a sítios do apoplasto e/ou simplasto das células da raiz (Kochian, 1995; Horst et al., 2010; Kopittke et al., 2015), levando ao enrijecimento celular e ruptura da epiderme (Kopittke et al., 2008) e, conseqüentemente, causando reduções no crescimento da raiz. Alguns estudos demonstram que o Al aumenta a biossíntese de auxina (ácido indolacético – AIA) nas pontas das raízes e, em relação à concentração de AIA na parte aérea, altas concentrações de AIA nas raízes pode prejudicar o crescimento da raiz (Ryan et al., 1993; Silva et al., 2019). Ainda, uma possível alteração do potencial de membrana (Ahn et al., 2002) e menor permeabilidade à água (Blamey et al., 1990; Horst et al., 2010) podem diminuir o potencial de pressão hidrostático (Ψ_p) e causar menor expansão celular neste órgão.

Além dos efeitos diretos e deletérios do Al no crescimento da raiz, este elemento também prejudica, indiretamente, o crescimento da parte aérea em plantas sensíveis (Vitorello et al. 2005; Gavassi et al. 2021). Alguns estudos sugerem que reduções no crescimento da raiz, causado pelo Al, resultaria em uma menor área de superfície de raiz para a absorção de água e hidratação da parte aérea (Horst, 1995; Kochian et al., 2004). De fato, reduções na condutância estomática (g_s) (Simon et al. 1994; Konrad et al. 2005; Silva et al. 2012), no potencial da água na folha (Ψ_w) e no conteúdo relativo de água na folha (CRA) (Silva et al. 2018; Cavalheiro et al. 2020) já foram observados em plantas

expostas ao Al, evidenciando que reduções no crescimento da raiz resultariam em diminuições na hidratação foliar, resultando em menor *gs*. Entretanto, uma vez que a maioria dos estudos que avaliam a resposta do Al são realizados com plantas crescendo em solução nutritiva, situação em que a água não é um fator limitante, é possível que reduções na área de superfície de raiz não seja suficiente para explicar reduções na hidratação foliar e em *gs*.

Danos anatômicos ao cilindro vascular da raiz, como a presença de xilema fibroso (Banhos et al., 2016) e maior deposição de lignina no cilindro vascular (Silva et al., 2019) foram observados em plantas de *Citrus x limonia* quando cultivadas em solução nutritiva com 1480 μ M Al. Em *Zea mays*, danos estruturais nas células do cilindro vascular também foram evidenciados quando expostas à 300 μ M Al (Batista et al., 2013). Além disso, diminuições na condutividade hidráulica da raiz foram observadas em plantas de *Z. mays* (Gunsé et al., 1997) e em *Solanum lycopersicum* (Gavassi et al., 2020) quando expostas ao Al. Estes estudos sugerem que o Al, além de inibir o crescimento da raiz, também pode afetar a absorção e o transporte de água para a parte aérea. Além disso, não se sabe se o impedimento no transporte de água ocorre antes ou depois do Al inibir o crescimento da raiz.

A presença do Al na raiz também pode desencadear sinais químicos para a parte aérea da planta e, uma vez que reduções em *gs* já foram evidenciadas em plantas sensíveis ao Al (Jiang et al., 2008; Silva et al., 2012; Banhos et al., 2016; Silva et al., 2018; Cavalheiro et al., 2020 Gavassi et al., 2020) é possível que o hormônio ácido abscísico (ABA) esteja diretamente relacionado com o fechamento estomático (menor *gs*) nessas plantas. O ABA tem sido amplamente estudado em plantas expostas ao Al (Shen et al., 2004; Hou et al., 2010 Kopittke, 2016), porém estes estudos associam o ABA mais com a resistência ao Al do que com a baixa hidratação foliar e *gs*. Estudos recentes evidenciaram a associação do ABA com diminuições em *gs* em plantas de *S. lycopersicum* (Gavassi et al., 2020) e em *C. x limonia* (Gavassi et al., 2020) expostas ao Al, entretanto estes estudos não avaliaram *gs* e crescimento da raiz ao longo do tempo.

Por outro lado, algumas espécies são capazes de crescer bem em solos ácidos com elevada saturação por Al, sem apresentar sintomas de toxicidade (Watanabe e Osaki, 2002; Fung et al., 2008; Bressan et al., 2021). Algumas espécies são consideradas “excludentes” de Al, e exsudam ácidos orgânicos (AO) (citrato, malato, oxalato e

succinato) pelas raízes para formar compostos estáveis com o Al (AO:Al) na rizosfera, podendo barrar a absorção deste metal (Ryan, 2011). Outras espécies são capazes de absorver, acumular e armazenar o Al em compartimentos celulares, como parede celular e vacúolos (Haridasan, 1982; Jansen et al., 2002; Bressan et al., 2016). É necessário enfatizar, no entanto, que para ser considerada acumuladora de Al, estudos de campo devem demonstrar que acumulam mais de 1000 mg Al por kg de massa seca de folhas (Chenery 1948). Dessa forma, plantas que crescem naturalmente em solos ácidos podem apresentar uma resistência natural ao Al (Souza et al., 2017).

Embora o Al não seja considerado um elemento essencial para as plantas acumuladoras de Al, alguns efeitos benéficos deste elemento foram relatados para algumas espécies (Watanabe et al., 2005; Muhammad et al., 2019; Liu et al., 2020). Plantas de *Melastoma malabathricum* (Osaki et al., 1997), *Camellia sinensis* (Sun et al., 2020) e *Symplocos paniculata* (Schmitt et al., 2016), quando cultivadas na presença de Al apresentaram maior crescimento da raiz e maior biomassa total em relação às plantas não expostas ao Al. Além disso, a presença de Al também aumentou a performance fotossintética de *Camellia sinensis* (Hajiboland et al., 2013) e *Camellia japonica* (Liu et al., 2020). Entretanto, o mecanismo pelo qual o Al estimula o crescimento em plantas acumuladoras de Al ainda não é totalmente compreendido.

Ilex paraguariensis é uma espécie da família Aquifoliaceae, popularmente conhecida como erva-mate, e bastante cultivada e consumida como chá em países da América do Sul, já que suas folhas e ramos são utilizados para o preparo de infusões. Diversos efeitos benéficos para a saúde humana estão associados ao consumo de infusões de erva-mate (Xu et al., 2009; Bracesco et al., 2011). Contudo, por ser uma espécie que naturalmente cresce em solos ácidos com elevada saturação por Al (Santin et al., 2013), alguns estudos apontam quantidades significativas de Al em suas folhas e infusões (Gomes da Costa et al., 2009; Pozebon et al., 2015; Barbosa et al., 2020; Olivari et al., 2020) que pode ser potencialmente tóxico para a saúde humana (Mold et al., 2020). Entretanto, apesar da raiz ser o primeiro órgão a entrar em contato com o Al e, conforme a resposta de tolerância da planta, resultar em acúmulo foliar, poucos estudos priorizam o entendimento sobre o desenvolvimento da raiz em plantas de erva-mate em presença de Al. Um desses poucos estudos foi realizado por Benedetti et al. (2017) que evidenciou maior desenvolvimento de raiz em mudas de erva-mate quando expostas a concentrações

crecentes de Al em solução nutritiva. Porém, poucas variáveis fisiológicas tem sido exploradas quando plantas dessa espécie são cultivadas em presença de Al.

Espécies acumuladoras de Al também são encontradas na vegetação do Cerrado, que tem como característica solos ácidos ($\text{pH} < 4.0$) com elevada saturação de Al trocável ($\text{m\%} > 50\%$) (Haridasan 1982; Lira-Martins et al. 2022). A maioria das plantas acumuladoras de Al do Cerrado pertencem às famílias Melastomataceae, Rubiaceae, Symplocaceae e Vochysiaceae (Haridasan 1982; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016) e podem acumular desde 4.000 até 20.000 mg Al por kg de massa seca de folhas (Haridasan 1982; Haridasan e Araújo 1988).

Alguns estudos têm atribuído funções fisiológicas ao Al em espécies acumuladoras. Em *Callisthene major*, *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) (Andrade et al., 2011) e *Rudgea virbunoides* (Rubiaceae) (Malta et al., 2016) espécies lenhosas do Cerrado acumuladoras de Al, foi evidenciada a presença deste elemento no cloroplasto destas espécies. Estes estudos levantaram o questionamento de que talvez o Al possa estar relacionado, diretamente, com processo fotossintético nestas espécies. No entanto, outros estudos não evidenciaram reações histoquímicas positivas para Al nos cloroplastos, nem mesmo nos tecidos fotossintéticos, sendo que o Al foi evidenciado na camada superior e inferior da epiderme (mas não no parênquima clorofiliano) de espécies acumuladoras de Al de Melastomataceae e Vochysiaceae do Cerrado (Bressan et al., 2016; Guilherme Pereira et al., 2018). Mudas de *Vochysia tucanorum* (Vochysiaceae) quando cultivadas em solução nutritiva com 1110 μM Al, apresentaram melhor performance fotossintética do que plantas cultivadas na ausência de Al, porém isto foi relacionado com um maior crescimento da raiz do que com um possível efeito direto do Al na fotossíntese (Bressan et al., 2021).

Diante do que foi exposto, na presente Tese de Doutorado foram avaliados o efeito do Al na hidratação da parte aérea em *Citrus x limonia*, uma espécie sensível ao Al, no crescimento e nas respostas fotossintéticas em *Ilex paraguariensis*, uma espécie tolerante ao Al, e em *Qualea grandiflora*, uma espécie acumuladora de Al nativa do Cerrado. A partir disso, três experimentos foram realizados e estão aqui apresentados no capítulo 1, 2 e 3. Para o experimento do capítulo 1, plantas de *Citrus x limonia* foram cultivadas por 60 dias em solução nutritiva com 0 e 1480 μM Al, para avaliar se reduções na hidratação foliar, em plantas expostas a 1480 μM Al, ocorrem antes ou depois da inibição no

crescimento de raiz. No capítulo 2, plantas de *Ilex paraguariensis* foram cultivadas por 60 dias em solução nutritiva contendo 0, 500, 1000 e 1500 μM Al, para testar se o Al induz o crescimento das raízes e da parte aérea nesta espécie com consequente aumento na performance fotossintética. Também avaliamos se reduções no crescimento da raiz, nas plantas crescendo na ausência de Al, está relacionado com maiores concentrações de IAA, uma vez que altas concentrações de IAA nas pontas das raízes podem inibir o seu crescimento. Por fim, no capítulo 3, mudas de *Qualea grandiflora* cresceram por 60 dias em solução nutritiva com 0, 740 e 1480 μM Al, a fim de verificar se o Al na solução nutritiva aumenta a assimilação de CO_2 através de uma maior eficiência aparente de carboxilação da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco).

Referências

- Ahn SJ, Sivaguru M, Chung GC, Rengel Z, Matsumoto H.** 2002. Aluminium-induced growth inhibition is associated with impaired efflux and influx of H⁺ across the plasma membrane in root apices of squash (*Cucurbita pepo*). *Journal of Experimental Botany* 53: 1959–1966
- 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. *Scientia Horticulturae* 205: 133–140
- Barbosa JZ, Zambon LM, Motta ACV, Wendling I.** 2015. Composition, hot-water solubility of elements and nutritional value of fruits and leaves of yerba mate. *Ciência e Agrotecnologia* 39: 593-603
- Batista MF, Moscheta IS, Bonato CM, Batista MA, Almeida OJG, Inoue TT.** 2013. Aluminum in corn plants: influence on growth and morpho-anatomy of root and leaf. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 37: 177–187
- Benedetti EL, Santim D, Barros NF, Pereira GL, Martinez HP, Neves JCL.** 2017. Does aluminum stimulate mate root growth? *Pesquisa Florestal Brasileira* 90: 139-147
- Blamey FPC, Edmeades DC, Wheeler DM.** 1990. Role of root cation---exchange capacity in differential aluminum tolerance of *Lotus* species. *Journal of Plant Nutrition* 13: 729–744
- Bracesco N, Sanchez AG, Contreras V, Menini T, Gugliucci A.** 2011. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *Journal of Ethnopharmacol* 136: 378–384
- Bressan ACG, Coan AI, Habermann G.** 2016. 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 and Soil* 404: 293–306
- Bressan ACG, Bittencourt BMOC, Silva GS, Habermann G.** 2021. 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
- Cavalheiro MF, Gavassi MA, Silva GS, Nogueira MA, Silva CMS, Domingues DS, Habermann G.** 2020. Low root PIP1-1 and PIP2 aquaporins expression could be related to reduced hydration in ‘Rangpur’ lime plants exposed to aluminum. *Functional Plant Biology* 47: 112–121.
- Chenery EM.** 1948. Aluminium in the plant world. Part I: general survey in dicotyledons. *Kew Bulletin* 173–183
- Fung KF, Carr HP, Zhang JH, Wong MH.** 2008. Growth and nutrient uptake of tea under different aluminium concentrations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1582–1591.

- Gavassi MA, Dodd IC, Puértolas J, Silva GS, Carvalho RF, Habermann G.** 2020. Aluminum-induced stomatal closure is related to low root hydraulic conductance and high ABA accumulation. 2020. *Environmental and Experimental Botany* 179: 104–233
- Gavassi MA, Silva GS, Silva CMS, Thompson AJ, Macleod K, Oliveira PMR, Cavalheiro MF, Domingues DS, Habermann G.** 2021. NCED expression is related to increased ABA biosynthesis and stomatal closure under aluminum stress. *Environmental and Experimental Botany* 184: 104–404.
- Gomes da Costa AM, da Nogami, EM, Visentainer JV, Souza NE, Garcia, EE.** 2009. Fractionation of aluminum in commercial green and roasted yerba mate samples (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) and in their infusions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 57: 196–200
- Guilherme Pereira C, Clode PL, Oliveira RS, Lambers H.** 2018 Eudicots from severely phosphorus-impooverished environments preferentially allocate phosphorus to their mesophyll. *New Phytologist* 218: 959–973
- Gunsé B, Poschenrieder C, Barceló J.** 1997. Water transport properties of roots and root cortical cells in proton- and Al-stressed maize varieties. *Plant Physiology* 113: 595–602.
- Hajiboland R, Bahrami Rad S, Barceló J, Poschenrieder C.** 2013. Mechanisms of aluminum-induced growth stimulation in tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176: 616–625.
- Haridasan M.** 1982. Aluminium accumulation by some Cerrado native species of Central Brazil. *Plant and Soil* 65: 265–273
- Haridasan M, Araújo GM.** 1988. Aluminium-accumulating species in two forest communities in the Cerrado region of central Brazil. *Forest Ecology and Management* 24:15–26
- Hou N, You J, Pang J, Xu M, Chen G, Yang Z.** 2010. The accumulation and transport of abscisic acid in soybean (*Glycine max* L.) under aluminum stress. *Plant and Soil* 330: 127–137.
- 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: 187-197.
- Horst WJ.** 1995. The role of the apoplast in aluminum toxicity and resistance of higher plants: a review. *Zeitschrift Für Pflanzenernährung Und Bodenkunde* 158: 419–428.
- Jansen S, Watanabe T, Smets E.** 2002. Aluminium accumulation in leaves of 127 species in Melastomataceae, with comments on the order Mirtales. *Annals of Botany* 90: 53-64
- Jiang H-X, Chen L-S, Zheng J-G, 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 Physiology* 28: 1863–1871.
- Kochian LV, Hoekenga OA, Pineros MA.** 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 55: 459–93.

- Kochian LV.** 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46: 237–260
- 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.
- Kopittke PM.** 2016. Role of phytohormones in aluminium rhizotoxicity. *Plant, Cell and Environmental* 39: 2319–2328.
- 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 RL, Green K, Tollenaere A.** 2015. Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. *Plant Physiology* 167:1402–1411
- Kopittke PM, Blamey FPC, Menzies NW.** 2008. Toxicities of soluble Al, Cu, and La include ruptures to rhizodermal and root cortical cells of cowpea. *Plant and Soil* 303: 217–227
- Liu Y, Tao J, Cao J, Zeng Y, Li X, Ma J, Huang Z, Jiang M, Sun L.** 2020. The beneficial effects of aluminum on the plant growth in *Camellia japonica*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 20: 1799-1809.
- Lira-Martins D, Nascimento DL, Abrahão A, Costa PB, D’Angioli AM, Valézio E, Rowland L, Oliveira RS.** 2022. Soil properties and geomorphic processes influence vegetation composition, structure, and function in the Cerrado Domain. *Plant and Soil* 476: 549–588
- 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
- Mold M, Linhart C, Gómez-Ramírez J, Villegas-Lanau A, Exley C.** 2020. Aluminum and amyloid- β in familial alzheimer’s disease. *Journal of Alzheimer’s Disease* 73:1627-1635.
- Muhammad N, Zvobgo G, Guo-ping Z.** 2019. A review: The beneficial effects and possible mechanisms of aluminum on plant growth in acidic soil. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 1518-1528.
- Olivari I, Paz S, Gutiérrez ÁJ, González-Weller D, Hardisson A, Sagratini G, Rubio C.** 2020. Macroelement, trace element, and toxical metal levels in leaves and infusions of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Environmental Science and Pollution Research* 27: 21341-21352.
- Osaki M, Watanabe T, Tadano T.** 1997. Beneficial effect of aluminum on growth of plants adapted to low pH soils. *Soil Science and Plant Nutrition* 43: 551–563.
- Pozebon D, Dressler VL, Marcelo MCA, Oliveira TC, Ferrão MF.** 2015. Toxic and nutriente elements in yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Additives Contaminants* 3: 215-220.

Ryan PR, Ditomaso JM, Kochian LV. 1993. Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *Journal of Experimental Botany* 44: 437–446

Ryan PR, Tyerman SD, Sasaki T, Furuichi T, Yamamoto Y, Zhang WH, Delhaize E. 2011. The identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils. *Journal of Experimental Botany* 62: 9-20.

Santin D, Benedetti EL, Barros NF, Almeida IC, Leal GP, Fontes L, Neves JCL, Wendling I, Reissmann CB. 2013. Effect of potassium fertilization on yield and nutrition on yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 38: 1469-1477.

Silva CMS, Cavaleiro 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 Regulation* 87: 123–137

Silva GS, Gavassi M, Nogueira MA, Habermann G. 2018. Aluminum prevents stomatal conductance from responding to vapor pressure deficit in *Citrus limonia*. *Environmental and Experimental Botany* 155:662–671

Silva S, Pinto G, Dias MC, Correia CM, Moutinho-Pereira J, Pinto-Carnide O, Santos C. 2012. Aluminum long-term stress differently affects photosynthesis in rye genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry* 54: 105–112.

Simon L, Kieger M, Sung SS, Smalley TJ. 1994. Aluminum toxicity in tomato. Part 2. Leaf gas exchange, chlorophyll content, and invertase activity. *Journal of Plant Nutrition* 17: 307–317.

Singh S, Tripathi DK, Singh S, Sharma S, Dubey NK, Chauhan DK, Vaculík M. 2017. Toxicity of aluminium on various levels of plant cell and organism: a review. *Environmental and Experimental Botany* 137: 177–193

Souza MC, Bueno PCP, Morellato LPC, Habermann G. 2015. Ecological strategies of Al-accumulating and non-accumulating functional groups from the cerrado *sensu stricto*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87: 813-823

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 and 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*). *Journal of Integrative Plant Biology* 62: 984–997.

Schmitt M, Boras S, Tjoa A, Watanabe T, Jansen S. 2016. Aluminum accumulation and intra-tree distribution patterns in three *Arbor aluminosa* (Symlocos) species from Central Sulawesi. *Plos One* 11:e0149078

Shen H, Ligaba A, Yamaguchi M, Osawa H, Shibata K, Yan X, Matsumoto H. 2004. Effect of K-252a and abscisic acid on the efflux of citrate from soybean roots. *Journal of Experimental Botany* 55: 663–671

Webb RI, Green K, Tollenaere A. 2015. Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. *Plant Physiology* 167: 1402–1411.

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, R.A. (Ed.), *Plant Soil Interactions at Low pH*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 5–19

Watanabe T, Jansen S, Osaki M (2005) The beneficial effect of aluminium and the role of citrate in Al accumulation in *Melastoma malabathricum*. *New Phytologist* 165: 773–780

Watanabe T, Osaki M. 2002. Mechanisms of adaptation to high aluminum condition in native plant species growing in acid soils: a review. *Communication in Soil Science Plant Analysis* 33: 1247–1260.

Xu GH, Kim YH, Choo SJ, Ryoo IJ, Yoo JK, Ahn JS, Yoo ID. 2009. Chemical constituents from the leaves of *Ilex paraguariensis* inhibit human neutrophil elastase. *Archives of Pharmacal Research* 32: 1215–1220

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do que foi exposto nos três capítulos apresentados neste trabalho, observamos que as plantas podem ter diferentes respostas fisiológicas quando expostas ao Al. Em plantas sensíveis, como é o caso de *C. limonia*, vimos que o Al afeta a hidratação foliar, através de reduções nos parâmetros hídricos e hidráulicos, sendo que estas limitações ocorreram bem antes da inibição no crescimento da raiz. Por outro lado, existem plantas que são capazes de crescer bem e até mesmo se beneficiar quando expostas ao Al, e isto foi observado em plantas de *I. paraguariensis* e *Q. grandiflora*. Plantas de *Ilex paraguariensis* expostas a 500 e 1000 μM Al apresentaram maior crescimento em relação às plantas crescendo sem Al, sendo que a ausência de Al comprometeu o crescimento da raiz, reduziu a hidratação foliar e resultou em diminuição na performance fotossintética. Já plantas de *Q. grandiflora* quando expostas ao Al apresentaram melhor desenvolvimento de raiz e maiores taxas de trocas gasosas devido a uma maior eficiência aparente de carboxilação da Rubisco. Em contrapartida, ausência de Al prejudicou o crescimento das raízes destas plantas, que se tornaram necróticas e disfuncionais. Desta forma, mais estudos são necessários para avaliar como o Al interfere na hidratação de plantas sensíveis, e também quais os mecanismos por trás do Al estimular o crescimento em plantas tolerantes e acumuladoras de Al.