

**Germinação, crescimento inicial e estresse oxidativo em plântulas de
Luehea divaricata Martius et Zuccarini cultivadas *in vitro* com
alumínio**

**Germination, initial growth and oxidative stress in *Luehea divaricata*
Martius et Zuccarini seedlings cultivated *in vitro* with aluminum**

DOI:10.34117/bjdv7n4-693

Recebimento dos originais: 04/02/2021

Aceitação para publicação: 01/03/2021

Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

Mestre em Agrobiologia pela UFSM

Instituição: Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Endereço: Rua Tuiuti 1806. Apto 202, Centro, Santa Maria, RS

E-mail: gerane-wertonge@hotmail.com

Luana de Campos de Jesus

Mestre em Engenharia Florestal pela UFSM

Instituição: UFSM

Endereço: Rua Pinheiro Machado 2888, Bloco 4, Apto 401, Centro, Santa Maria- RS

E-mail: luanacampos@yahoo.com

Caroline Castro Kuinchtner

Bacharel em Engenharia Florestal pela UFSM

Instituição: UFSM

Endereço: Rua Cinco de março, 209, apto 301, Camobi, Santa Maria- RS

E-mail: ccastrokuinchtner@gmail.com

Andriela de Freitas Junges

Bacharel em Engenharia Florestal pela UFSM

Instituição: Organização não Governamental Engenheiros Sem Fronteiras

Endereço: Rua Dom Érico Ferrari 59, Apto. 401, Parque Dom Antônio Reis Santa
Maria- RS

E-mail: andri.junges@hotmail.com

Thalía Preussler Birck

Técnica em Agricultura pelo Instituto Federal Farroupilha campus Santo Ângelo e
Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, UFSM

Instituição:UFSM

Endereço: Rua Franklin Bittencourt Filho 515, Camobi, Santa Maria- RS

E-mail: thaliabirck@gmail.com

Marcos Vinícius Miranda Aguilar

Mestre em Engenharia Florestal pela UFSM

Instituição:UFSM

Endereço: Rua Congonhas, 103. Apto. 202, Camobi, Santa Maria- RS

E-mail: aguilmarcos2009@hotmail.com

Luciane Almeri Tabaldi

Doutora em Agronomia. Professora Associada do Magistério Superior no Departamento de Biologia da UFSM

Endereço: Rua Topazio 132, Camobi, Santa Maria, RS

E-mail: lutabaldi@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do alumínio (Al) sobre a germinação, crescimento inicial e estresse oxidativo de plântulas de *Luehea divaricata* em cultivo *in vitro*. Sementes de *L. divaricata* foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio MS com diferentes concentrações de Al (0, 50 e 100 mg L⁻¹), em pH 4,5. As plântulas foram cultivadas em sala de crescimento, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 tubos de ensaio cada, e uma semente por tubo. Após 60 dias de cultivo, as plântulas foram coletadas para as análises morfológicas e bioquímicas. A germinação de sementes e a biomassa fresca e seca de parte aérea foram significativamente reduzidas pelo Al. O número de folhas, comprimento da raiz principal, altura, massa fresca de raízes, diâmetro e volume médio radicular foram reduzidos em 100 mg L⁻¹ de Al. O comprimento médio de raízes, a área superficial e biomassa seca de raízes não foram afetados pelo Al. Nas raízes, a concentração de 100 mg L⁻¹ reduziu a atividade da guaiacol peroxidase (POD) e aumentou a da superóxido dismutase (SOD), enquanto na parte aérea essas enzimas foram inibidas pelo Al, mas o aumento na peroxidação lipídica só foi observado em 100 mg L⁻¹. Com base nos resultados, pode-se concluir que as plântulas de *L. divaricata* apresentam tolerância ao Al em concentração de até 50 mg L⁻¹ quando presente no meio de crescimento *in vitro*. Esta é uma informação relevante para utilização desta espécie no reflorestamento e descontaminação de solos ácidos.

Palavras-chave: açoita-cavalo; toxidez; metais pesados; enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the effect of aluminum (Al) on germination, initial growth and oxidative stress of *Luehea divaricata* seedlings *in vitro* cultivation. Seeds of *L. divaricata* were inoculated in test tubes containing MS medium with different concentrations of Al (0, 50 and 100 mg L⁻¹), at pH 4.5. The plants were grown in a growth room, in a completely randomized design, with four replications of 20 test tubes each, and one seed per tube. After 60 days of cultivation, the plants were collected for the morphological and biochemical variables. Seed germination and fresh and dry shoot biomass were significantly reduced by Al. The number of leaves, length of the main root, height, fresh weight of roots, diameter and mean root volume were reduced by 100 mg L⁻¹ of Al. The average length of roots, the surface area and dry biomass of roots were not affected by Al. In the roots, the concentration of 100 mg L⁻¹ reduced the activity of guaiacol peroxidase (POD) and increased that of superoxide dismutase (SOD), while in the shoot these enzymes were inhibited by Al, but the increase in lipid peroxidation was only observed in 100 mg L⁻¹. Based on the results, it can be concluded that *L. divaricata* seedlings have tolerance to Al at a concentration of up to 50 mg L⁻¹ when present in the growth medium *in vitro*. This is relevant information for the use of this species in reforestation and decontamination of acidic soils.

Keywords: açoita-cavalo, toxicity, heavy metals, antioxidant enzymes.

1 INTRODUÇÃO

Mesmo através de inúmeros avanços que surgiram ao longo dos anos para a agricultura, o solo continua sendo um dos entraves no desenvolvimento de culturas. Aproximadamente metade dos solos produtivos mundiais são ácidos (pH inferior a 5,5) e ocorrem em regiões tropicais e subtropicais (RAHMAN et al., 2018; BHALERAO; PRABHU, 2013). O Brasil, por ser um país que se encontra nesta região, tem esta problemática que acarreta na restrição da produção das culturas agrícolas (NUNES-NESI et al., 2014; SINGH et al., 2017)

A acidificação nos solos pode ser considerada um processo natural, mas que se agrava devido às atividades antrópicas como a má destinação dos resíduos de minérios e o manuseio inadequado do solo (BOJÓRQUEZ-QUINTAL et al., 2017). A ameaça mais significativa da acidez do solo está na solubilização e, conseqüentemente, fitotoxicidade do alumínio (Al) (ROUT; SAMANTARAY; DAS, 2001; BHALERAO; PRABHU, 2013). O Al, estando em formas fitotóxicas, além de causar danos diretos nos componentes celulares, compete com outros cátions essenciais às plantas, reduzindo sua absorção, interferindo na nutrição das mesmas (NUNES-NESI et al., 2014). A toxicidade do Al tem sido um dos maiores contratempos agronômicos, assumindo e ganhando atenção nas pesquisas, pois busca-se entender o comportamento das espécies expostas ao metal (SINGH et al., 2017).

Dentre os efeitos tóxicos do Al nas plantas estão a inibição do crescimento, mudanças na composição e permeabilidade da membrana plasmática, alteração da estrutura da parede celular, redução na absorção de nutrientes (principalmente Ca^{2+}), interferência na transdução de sinal e estresse oxidativo (KISNIERIENË; LAPEIKAITË, 2015; SINGH et al., 2017).

Uma das principais fontes de Al para os animais e humanos são os alimentos (KISNIERIENË; LAPEIKAITË, 2015). Neste sentido, o cultivo das plantas é a porta de entrada da cadeia alimentar. Por outro lado, as plantas podem ser consideradas também como uma barreira à entrada desse elemento na cadeia alimentar, a partir do momento em que se usam espécies arbóreas não alimentícias na recuperação de áreas contaminadas, as quais retiram esses metais tóxicos do solo, acumulando-os em seus tecidos. Isto porque as plantas desenvolvem mecanismos para sobreviver nestes ambientes tóxicos. Alguns autores constataram que espécies lenhosas são mais propensas a acumular Al do que cereais (RAHMAN et al., 2018). Ainda pouco se sabe sobre a relação de espécies arbóreas nativas brasileiras e seu potencial de tolerar solos contaminados, e a diferença entre

espécies tolerantes e não-tolerantes está além de aspectos morfológicos, mas fisiológicos e bioquímicos (SANTOS; NOVAK, 2013).

Luehea divaricata Mart. & Zucc., conhecida popularmente como açoita-cavalo, açoita-cavalo-miúdo, ibatingui, ivatingui, pau-de-canga, caiboti (LORENZI, 2002), é uma espécie florestal nativa pertencente à família Malvaceae. Esta espécie pode ser encontrada de norte a sul do Brasil ocupando áreas de matas ciliares, tanto em solos encharcados e/ou bem drenados (De CARVALHO et al., 2008), e em solos profundos e/ou solos pedregosos (PEDROSO; MATOS, 1987).

Do ponto de vista ambiental, *L. divaricata* é uma das árvores de uso mais relevante para o reflorestamento em função da adaptação a encostas íngremes, margens de rios e áreas em que o solo está permanentemente encharcado (CARVALHO, 1994). Possui também características ornamentais que a recomendam para o paisagismo, sendo considerada uma espécie pioneira de rápido crescimento, que não pode faltar nos reflorestamentos mistos de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2002). Possebom et al. (2018) em um estudo em solução nutritiva, concluíram que as mudas de *L. divaricata* sofreram redução de crescimento e estresse oxidativo a partir de 25 mg L⁻¹ de Al. No entanto, não existem atualmente informações disponíveis sobre o efeito do Al na germinação e crescimento inicial da espécie florestal *L. divaricata* em cultivo *in vitro*.

Tendo em vista a característica ácida dos solos do Brasil e a crescente demanda por madeira de qualidade, torna-se relevante analisar o comportamento de espécies florestais crescendo na presença de Al. Portanto o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do Al sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de *Luehea divaricata* em cultivo *in vitro*. Além disso, buscou-se entender de que forma o Al promove estresse oxidativo nessas plantas, o que poderia ser útil para uma possível utilização dessas plantas na descontaminação de solos ricos em Al.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento e as análises foram realizadas nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Sementes da espécie *Luehea divaricata* utilizadas foram obtidas no Centro de Pesquisas em Florestas (DDPA) de Santa Maria, RS. Previamente à inoculação das sementes, as mesmas passaram por procedimentos de assepsia em etanol 70% durante

15 minutos e posterior imersão em solução comercial de hipoclorito de sódio (3% de cloro ativo) durante 45 min, acrescida de algumas gotas de detergente neutro.

Posterior ao processo de assepsia, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 12 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). O meio de cultura estava acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 6 g L⁻¹ de Agar, 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol e diferentes concentrações de Al (0, 50 e 100 mg L⁻¹, na forma de AlCl₃), em pH 4,5. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h, temperatura de 25±2°C e luminosidade controlada. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 tubos de ensaio cada, e uma semente por tubo.

A porcentagem de germinação foi determinada durante três semanas após a instalação do experimento. Aos 60 dias após a instalação do experimento, as plântulas foram coletadas e lavadas em água destilada para retirada do meio de crescimento, as quais foram utilizadas para a determinação das seguintes variáveis:

- Comprimento da raiz principal: determinado com régua graduada em milímetros;
- Comprimento da parte aérea: determinado com régua graduada em milímetros, desde a base da planta até a inserção das últimas folhas;
- Número de folhas;
- Biomassa fresca de raízes e da parte aérea das plântulas: as raízes e parte aérea foram coletadas separadamente e imediatamente pesadas em balança digital para determinação da biomassa fresca.
- Biomassa seca de raízes e da parte aérea das plântulas: As amostras de massa fresca foram colocadas em sacos de papel Kraft e levadas para estufa de circulação forçada de ar a 65°C, sendo posteriormente pesadas em balança de precisão (0,0001g) até massa constante.
- Variáveis morfológicas do sistema radicular: comprimento médio, área superficial, volume médio e diâmetro médio de raízes, número de pontas e número de ramificações de raízes. As raízes das plântulas foram lavadas com água deionizada e foram dispostas em folhas de papel filtro, acondicionadas em sacos plásticos e levadas à geladeira (4°C) para armazenamento. A digitalização das raízes foi realizada com auxílio do scanner Epson 11000XL, onde as imagens foram geradas e analisadas pelo software WinRHIZO Pro.

Além destas, também foram avaliadas variáveis bioquímicas. Amostras frescas de folhas e de raízes foram congeladas (-80°C) e após maceradas com nitrogênio líquido para determinação das variáveis bioquímicas listadas abaixo:

- Atividade de enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (POD): As amostras maceradas (0,5 g) foram homogeneizadas em 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M. Após, o homogeneizado foi centrifugado e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas POD e SOD conforme Zhu et al. (2004). A atividade da enzima POD foi determinada segundo Zeraik, Souza e Fatibello Filho (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. Os resultados foram expressos em unidade de enzima por mg de proteína ($U\ mg^{-1}$ proteína). A atividade da SOD foi determinada de acordo com o método descrito por Giannopolitis; Ries (1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotoredução do NBT em 50%.

- Peroxidação lipídica: foi estimada pela concentração de malondialdeído (MDA), seguindo o método de El-Moshaty et al. (1993). Amostras de folhas e raízes (0,5 g) foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 4,0 mL de tampão citrato de sódio (pH 6,5) e centrifugadas. Um mL do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA). A mistura foi aquecida a 95°C por 40 min e então resfriada em banho de gelo por 15 min, sendo centrifugada a 10.000 x g por 15 minutos. A absorbância do sobrenadante foi lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol de MDA mg^{-1} de proteína.

- Determinação dos teores de proteína: Determinados utilizando albumina do soro bovino como padrão (BRADFORD, 1976).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o *software* estatístico SISVAR v 5.6 (FERREIRA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

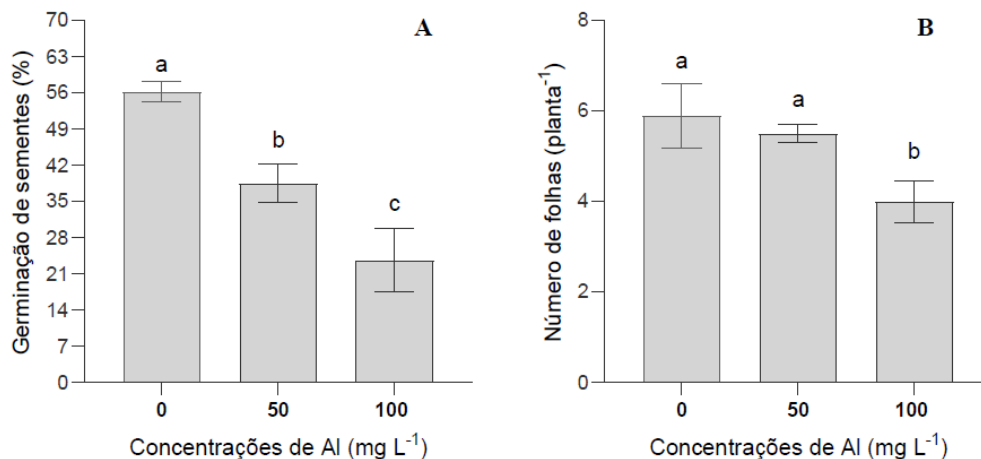
Efeitos do alumínio (Al) na germinação e crescimento inicial de *Luehea divaricata*

Após o período de exposição ao Al, a porcentagem de germinação de sementes de *L. divaricata* foi significativamente reduzida nas concentrações de 50 e 100 $mg\ L^{-1}$ de Al, comparado com o tratamento controle (Figura 1A). O efeito negativo em altas concentrações de Al observado sobre a germinação de sementes pode ser devido às influências decisivas do Al ao entrar em contato com a membrana celular, podendo reduzir a absorção de água, desestruturar proteínas e causar desequilíbrio hormonal e metabolismo das sementes (ROSHANI; ABBASPOUR; SAEIDI-SAR, 2014). Koszo,

Rinaldi e Barbedo (2007) também constataram o efeito adverso de soluções de Al em baixo pH na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas das espécies lenhosas *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Erythrina speciosa* Andr.

Luehea divaricata possui uma viabilidade de sementes muito variável (20 a 75%) e a germinação lenta e irregular (LORENZI, 2002; CARVALHO, 1994). No entanto, o resultado de porcentagem de germinação no tratamento controle (56%) foi aproximadamente o mesmo obtido por Flôres (2007) ao inocular sementes de *L. divaricata* no mesmo meio de cultivo. No entanto, neste trabalho (Flôres, 2007), a assepsia das sementes foi realizada em água a 60°C por 10 minutos, etanol 70% por 30 seg, solução 3% de hipoclorito de sódio por 10 min e uma solução de fungicida. Um dos valores de porcentagem de germinação de sementes mais alto obtido nos ensaios da autora foi de 52%, com baixa contaminação fúngica e bacteriana.

Figura 1 - Porcentagem de germinação de sementes (A) e número de folhas de plântulas (B) de *Luehea divaricata* expostas a diferentes concentrações de alumínio em cultivo *in vitro* por 60 dias. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

O decréscimo significativo do número de folhas nas plântulas se deu na concentração de 100 mg L⁻¹ (Figura 1B). A quantificação de número de folhas é uma variável de fácil determinação e muito utilizada para determinar a qualidade de mudas em experimentos. Mudanças no sistema radicular interferem na absorção de nutrientes, o que leva a deficiências nutricionais em brotos e folhas (BHALERAO; PRABHU, 2013), podendo ocasionar menor número e tamanho de partes aéreas das plantas.

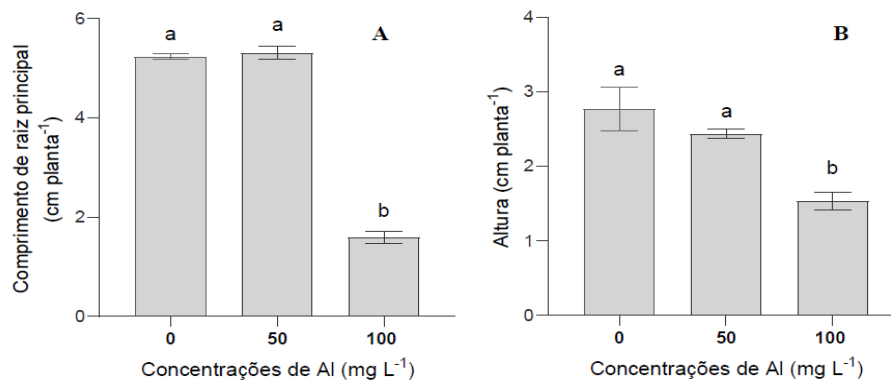
O comprimento de raiz tem sido utilizado em vários estudos para avaliar a toxicidade de Al em plantas. Da mesma forma que para número de folhas, o comprimento

da raiz principal foi menor em plântulas expostas à $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Al}$ (Figura 2A). Esta redução chegou a aproximadamente 70% em relação ao controle (diferença de médias). A inibição da alongação radicular é o primeiro e mais significativo sintoma da toxicidade do Al, podendo ser detectado dentro de poucos minutos após o contato da raiz com o metal apresentando raízes laterais mais finas (GORDIN et al., 2013; KISNIERIENË; LAPEIKAITË, 2015). Essa inibição do crescimento das raízes pode ser acompanhada de morte celular programada e perda de integridade da membrana. Isto limita a absorção de água e nutrientes e restringe a profundidade de penetração do sistema radicular, com possível redução do crescimento de toda a planta (ŠIMONOVÍČOVÁ et al., 2004; VITORELLO; CAPALDI; STEFANUTO, 2005). Geralmente o efeito do Al é na divisão celular da ponta das raízes (porque interfere na replicação do DNA), aumenta a rigidez da parede celular e afeta a absorção e transporte de nutrientes (ROUT; SAMANTARAY; DAS; 2001; GORDIN et al., 2013). Antes de inibir a divisão celular, o Al atinge rapidamente a expansão e o alongamento das células da raiz (SINGH et al., 2017). Ensaios em solução nutritiva com *Pinus massoniana* também mostraram o efeito do Al nesta espécie arbórea, onde o mesmo afetou o sistema radicular, se acumulando na raiz e inibindo a divisão e expansão celular, além de outros efeitos no DNA (ZHANG et al., 2014).

Assim como no número de folhas e comprimento de raiz principal, o efeito das concentrações de Al foi significativo em $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Al}$ para a altura da parte aérea das plântulas de *L. divaricata* (Figura 2B). No entanto o efeito foi menos agressivo nesta concentração para a parte aérea, pois houve uma redução de crescimento de aproximadamente 45% em relação ao controle. Em geral, o Al se acumula em maiores concentrações nas raízes, e por isso, provavelmente, ocasiona danos menos significativos na parte aérea das plantas. Em *Jatropha curcas* L. (pinhão manso), o Al também interferiu com mais intensidade no sistema radicular do que na parte aérea, além de reduzir também a germinação de sementes a 10 mmol L^{-1} (GORDIN et al., 2013).

Na concentração 100 mg L^{-1} de Al ocorreu uma redução no comprimento da raiz principal e altura de parte aérea, mas a biomassa fresca e seca da parte aérea foi reduzida em 50 e 100 mg L^{-1} (Figura 3A e 3C). Por outro lado, a biomassa fresca de raízes foi reduzida somente em 100 mg L^{-1} , enquanto a biomassa seca de raízes não foi

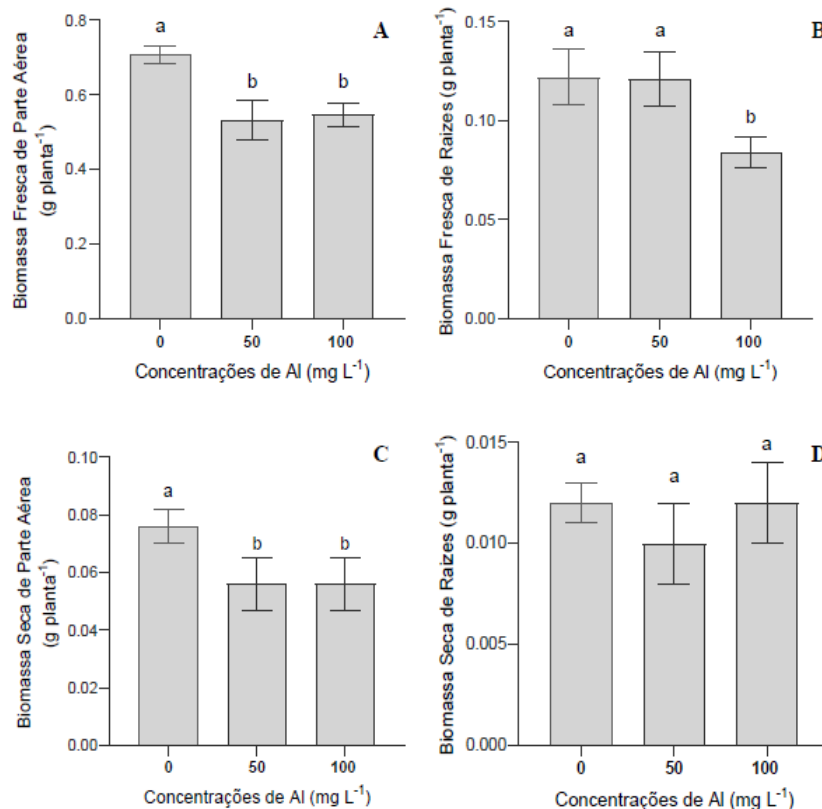
Figura 2 - Efeito de diferentes concentrações de alumínio sobre o comprimento da raiz principal (A) e altura da parte aérea(B) de plântulas de *Luehea divaricata* em cultivo *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

reduzida em 50 e 100 mg L⁻¹ (Figura 3A e 3C). Por outro lado, a biomassa fresca de raízes foi reduzida somente em 100 mg L⁻¹, enquanto a biomassa seca de raízes não foi influenciada de forma significativa pelas concentrações de Al no meio de crescimento (Figura 3B e 3D). Esses dados corroboram com as variáveis de comprimento médio total de raízes (Figura 4A).

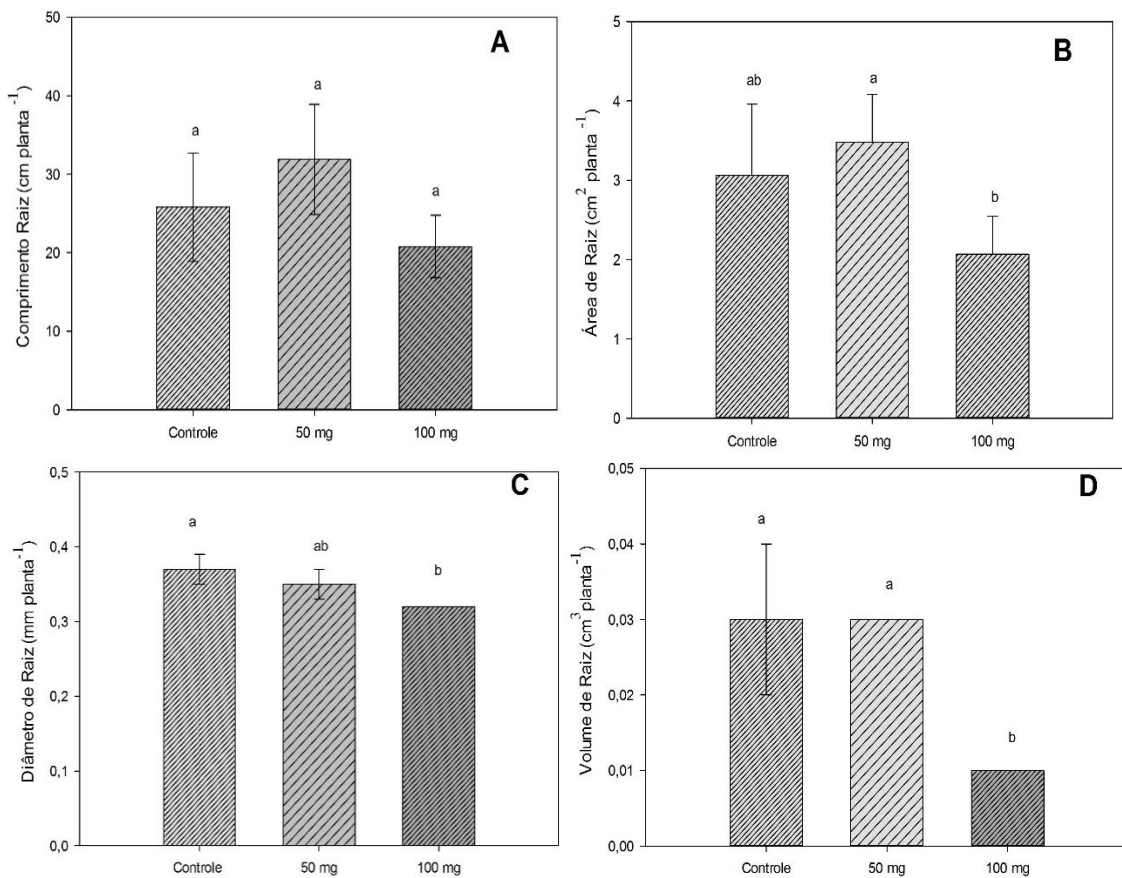
Figura 3 - Efeito de diferentes concentrações de alumínio sobre massa fresca de folhas (A), massa fresca de raízes (B), massa seca de folhas (C), massa seca de raízes (D) de plântulas de *Luehea divaricata* em cultivo *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

O comprimento médio total e a área superficial não foram responsivos ao Al no meio de cultura (Figura 4A, 4B). No entanto o diâmetro e o volume de raízes foram afetados negativamente nas plântulas expostas à 100 mg L⁻¹ Al (Figura 1C, 1D). Com um volume menor de raízes, a planta explora um volume de solo menor e consequentemente absorve menos água e nutrientes, reduzindo o crescimento da planta.

Figura 4 - Efeito de diferentes concentrações de alumínio sobre comprimento médio de raízes (A), área superficial de raiz (B), diâmetro médio de raiz (C) e volume médio de raiz (D) de plântulas de *Luehea divaricata* em cultivo *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

A concentração de 50 mg L⁻¹ de Al afetou negativamente algumas variáveis (germinação, biomassa fresca e seca de folhas), mas a maioria das variáveis de crescimento avaliados neste trabalho foram reduzidas de forma mais significativa em 100 mg L⁻¹ de Al. *Luehea divaricata* cultivada em solução nutritiva também apresentou redução linear com o aumento de Al a partir da concentração de 25 mg L⁻¹ nas variáveis de crescimento e teor de pigmentos fotossintéticos (POSSEBOM et al., 2018). Esta maior sensibilidade das plantas cultivadas em solução nutritiva pode estar associada a maior

disponibilidade de Al, comparada com o meio de cultura (geleificado) *in vitro* (MALDANER, 2008).

Concentrações menores de Al que as utilizadas nesse experimento ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$) reduziram de forma significativa o crescimento em altura e a produção de matéria seca de plantas de angico (*Anandenantha peregrina*) e moringa (*Moringa oleifera*) (BEUTLER; FERNANDES; FAQUIN, 2001), sugerindo que plantas de *L. divaricata* apresentaram tolerância ao Al quando presente no meio de crescimento, pois quando expostas à altas concentrações de Al (50 mg L^{-1}) houve redução no crescimento somente em algumas variáveis de crescimento.

Efeitos do Alumínio no estresse oxidativo de *Luehea divaricata*

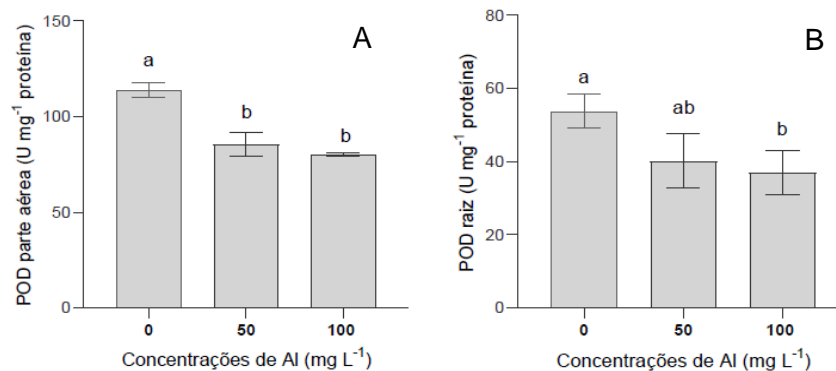
A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é um processo natural da planta, mas em condições de exposição a metais como Al, os teores de ERO podem sofrer desequilíbrio e afetar o metabolismo celular, provocando estresse oxidativo e peroxidação lipídica (DAVEY et al., 2005; MOBIN; KHAN, 2007; SINGH et al., 2017). As ERO têm capacidade de oxidar lipídios, proteínas e DNA, causando inativação enzimática e eventualmente morte celular (BHALERAO; PRABHU, 2013). As plantas desenvolveram formas de eliminar ou transformar estas ERO, aumentando a atividade de enzimas antioxidantes. A SOD atua como primeira linha de defesa da planta, degradando moléculas de superóxido em H_2O_2 e O_2 . As peroxidases (POD, por exemplo) atuam reduzindo a ERO H_2O_2 à H_2O (ŠIMONOVÍČOVÁ et al., 2004).

O Al influenciou significativamente a atividade das enzimas guaiacol peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) na parte aérea (Figura 5A, 6A). A partir de 50 mg L^{-1} a atividade destas enzimas foi reduzida. Esta inibição na atividade das enzimas antioxidantes pode ser devido ao bloqueio de grupos funcionais-SH ou a substituição de íons metálicos essenciais nas enzimas (SHAH; DUBEY, 1995; SCHÜTZENDÜBEL; POLLE, 2002).

Por outro lado, a atividade destas duas enzimas nas raízes foi diferente. A concentração de 100 mg L^{-1} promoveu uma inibição significativa da atividade da POD em relação ao tratamento controle (Figura 5B), enquanto a atividade da SOD aumentou significativamente em raízes expostas a 100 mg L^{-1} de Al (Figura 6B). Isso indica que o Al causou estresse oxidativo nas raízes das plantas de *L. divaricata*, promovendo a formação de ERO e consequentemente ativação da enzima antioxidante SOD. Portanto, pode-se supor que o aumento da atividade da SOD na raiz foi uma forma de defesa da

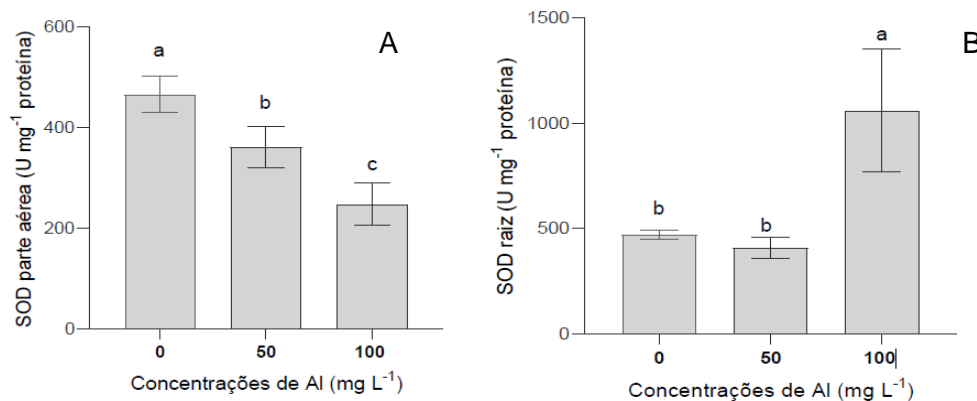
planta em alta concentração de Al, contra a produção excessiva do ânion superóxido. No entanto, a atividade da POD sofreu redução significativa na maior concentração. Com a inibição significativa da POD na concentração de 100 mg L⁻¹ em raízes, possivelmente ocorreu menor remoção do peróxido de hidrogênio (produto da atividade da SOD), o que ocasionou dano oxidativo em biomoléculas, e conseqüentemente menor produção de biomassa e crescimento de raízes, como foi visto neste trabalho.

Figura 5. Atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) na parte aérea (A) e nas raízes (b) de plântulas de *Luehea divaricata* expostas ao alumínio *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

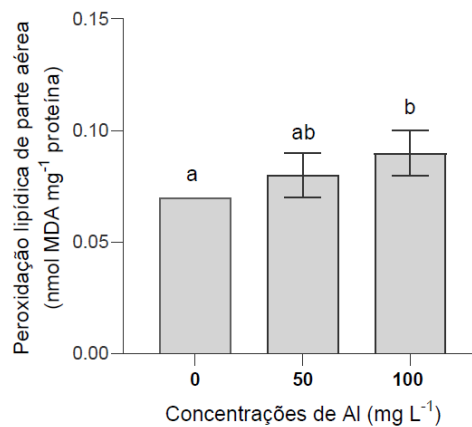
Figura 6. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plântulas de *Luehea divaricata* expostas ao alumínio *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

Somente a concentração de 100 mg L⁻¹ de Al promoveu um aumento significativo em relação ao controle na peroxidação lipídica em parte aérea de plântulas de *Luehea divaricata*. A redução da atividade da POD e da SOD na parte aérea (Figura 5A e 6A) está possivelmente associada com este aumento de peroxidação lipídica e redução na produção de biomassa de parte aérea dessas plantas.

Figura 7. Peroxidação de lipídios de membrana de parte aérea de plantas de *Luehea divaricata* expostas ao alumínio *in vitro*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey.



Fonte: Os autores (2021).

Estes resultados indicam que o Al causa danos oxidativos nas plantas desta espécie, mas as mesmas apresentam certa tolerância a esse metal, uma vez que a peroxidação lipídica na concentração de 50 mg L⁻¹ foi estatisticamente igual ao controle sem Al. O Al, em altas concentrações, pode modificar o arranjo de lipídios de membrana, facilitando a peroxidação lipídica ocasionada pelo Fe(II), levando à modificações da permeabilidade de membranas (KISNIERIENĖ; LAPEIKAITĖ, 2015). Há muito tempo se sabe que o estresse prolongado com Al provoca peroxidação lipídica e alteração das atividades da SOD e peroxidases em raízes (ROUT; SAMANTARAY; DAS; 2001).

Da mesma forma que foi observado para algumas variáveis de crescimento, a concentração de 50 mg L⁻¹ de Al causou efeitos de inibição nas atividades das enzimas antioxidantes na parte aérea de plântulas de *L. divaricata*, mas não ocasionou peroxidação lipídica. Esta inibição em enzimas antioxidantes e estresse oxidativo expresso pela peroxidação lipídica em 100 mg L⁻¹ de Al acarretou em redução significativa de comprimento e biomassa em relação ao controle.

4 CONCLUSÃO

Concentrações elevadas de alumínio (100 mg L⁻¹) interferem negativamente no crescimento e bioquímica das plantas de *Luehea divaricata*. Apesar da germinação de sementes de *L. divaricata* ser significativamente reduzida a partir da concentração de 50 mg L⁻¹ de Al, as plantas apresentam tolerância ao Al em concentração de até 50 mg L⁻¹ quando presente no meio de crescimento *in vitro*. Esta é uma informação relevante para utilização desta espécie no reflorestamento e descontaminação de solos ácidos.

REFERÊNCIAS

- BEUTLER, A.N.; FERNANDES, L.A.; FAQUIN, V. Efeito do alumínio sobre o crescimento de duas espécies florestais. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.25, p.923-928, 2001.
- BHALERAO, S. A.; PRABHU, D. V. Aluminium Toxicity in Plants - A Review. **Journal of Applicable Chemistry**, v. 2, n.3, p. 447-474, 2013.
- BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; ESCALANTE-MAGAÑA, C.; ECHEVARRÍA-MACHADO, I.; MARTÍNEZ-ESTÉVEZ, M. Aluminum, a Friend or Foe of Higher Plants in Acid Soils. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1767, p. 1-18, 2017.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira. Colombo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas – CNPF, 1994. 640 p.
- DAVEY, M.W.; STALS, E.; PANIS, B.; KEULEMANS, J.; SWENNEN, R. L. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 347, n.2, p. 201–207, 2005.
- De CARVALHO, M.C.C.G.; Da SILVA, D.C.G.; RUAS, P.M.; MEDRI, M.E.; RUAS, E.A.; RUAS, C.F. Flooding tolerance and genetic diversity in populations of *Luehea divaricata*. **Biologia Plantarum**, v.52, p.771-774, 2008.
- EL-MOSHATY, F. I. B.; PIKE, S. M.; NOVACKY, A. J.; SEHGAL, O. P. Lipid peroxidation and superoxide productions in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco rings virus or southern bean mosaic virus. **Journal Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.43, n.15, p.109- 119, 1993.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**. vol. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.48, n.59, p.315-318, 1977.
- GORDIN, C. R. B.; MARQUES, R. F.; ROSA, R. J. M.; SANTOS, A. M.; SCALON, S. P. Q. Emergência de plântulas e crescimento inicial do pinhão manso exposto a alumínio. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 147-156, 2013.
- FLÔRES, A. V. **Introdução ao cultivo *in vitro* de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Martius et Zuccarini)**. 2007. 73 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil, 2007.

KISNIERIENÉ, V.; LAPEIKAITÉ, I. When chemistry meets biology: the case of aluminium- a review. **Chemija**, v. 26, n. 3, p. 148-158, 2015.

KOSZO, C. R. R.; RINALDI, M. C. S.; BARBEDO, C. J. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr., *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Cucumis sativus* L. em meio ácido. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 271-282, 2007.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras. **Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 4. ed. São Paulo: Odessa/Instituto Plantarum, 368 p., v. 1, 2002.

MALDANER, J. **Toxidez de Alumínio em genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken**. 2008. 94 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2008.

MOBIN, M.; KHAN, N. A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n.5, p. 601-610, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v.15, p.473-497, 1962.

NUNES-NESE, A.; BRITO, D. S.; INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; FERNIE, A. R.; ARAÚJO, W. L. The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. **Trends in Plant Science**, v.19, n. 6, p. 399-407, 2014.

PEDROSO, O.; MATOS, J.R. **Estudo sobre madeiras do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Companhia Rio-Grandense de Artes Gráficas, 1987. 185p.

POSSEBOM, G.; PEREIRA, A. S.; DORNELES, A. O. S.; SASSO, V. M.; ROSSATO, L. V.; TABALDI, L. A.; BELLOCHIO, S. D. C.; ALVES, J. S.; JESUS, L. C.; BERNARDY, K. *Luehea divaricata* Martius et Zuccarini Is a Sensitive Species to Aluminum, Not Presenting Phytoremediation Potential. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 3, p. 265-275, 2018.

RAHMAN, M. A.; LEE, S. H.; JI, H. C.; KABIR, A. H.; JONES, C. S.; LEE, K. W. Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1-28, 2018.

ROSHANI, M.; ABBASPOUR, H.; SAEIDI-SAR, S. Effect of aluminium stress on germination and mineral nutrition of kidney bean cultivars with different sensitivity to aluminium. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 11, n. 2, p. 545-553, 2014.

ROUT, G.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminium toxicity in plants: a review. **Agronomie, EDP Sciences**, v. 21, n. 1, p. 3-21, 2001.

SANTOS, C. F.; NOVAK, E. Plantas nativas do cerrado e fitorremediação. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 7, n. 1, p. 67-78, 2013.

SCHÜTZENDÜBEL, A., POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1351–1365, 2002.

SHAH, K., DUBEY, R.S. Effect of cadmium on RNA as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 33, p. 577–584, 1995.

ŠIMONOVIČOVÁ, M.; TAMÁS, L.; MISTRÍK, I. HUTTOVÁ, J. Effect of Aluminium on Oxidative Stress Related Enzymes Activities in Barley Roots. **Biologia Plantarum**, v.48, n. 2, p. 261–266, 2004.

SINGH, S.; TRIPATHI, D. K.; SINGH, S.; SHARMA, S.; DUBEY, N. K.; CHAUHAN, D. K.; VACULÍK, M. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v.137, p. 177-193, 2017.

VITORELLO, V. A.; CAPALDI, F. R.; STEFANUTO, V. A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 129-143, 2005.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v.31, n.3, p.731-734, 2008.

ZHANG, H.; JIANG, Z.; QIN, R.; ZHANG, H.; ZOU, J.; JIANG, W.; LIU, D. Accumulation and cellular toxicity of aluminum in seedling of *Pinus massoniana*. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 264, p. 1-16, 2014.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v.167, n. 3, p.527-533, 2004.