

**ELIZIANE LUIZA BENEDETTI**

**TOLERÂNCIA DA ERVA MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) AO ALUMÍNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2012**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

B462t  
2012

Benedetti, Eliziane Luiza, 1981-

Tolerância da erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) ao  
alumínio / Eliziane Luiza Benedetti. – Viçosa, MG, 2012.  
viii, 72f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Nairam Félix de Barros.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Ilex paraguariensis*. 2. Solos ácidos. 3. Erva-mate -  
Efeito do alumínio. 4. Fenóis. 5. Plantas - Efeito do boro.  
6. Crescimento (Plantas). 7. Erva-mate. 8. Alumínio - Testes  
de toxicidade. 9. Erva-mate - Nutrição. I. Universidade  
Federal de Viçosa. II. Título.

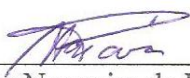
CDD 22. ed. 633.77

ELIZIANE LUIZA BENEDETTI

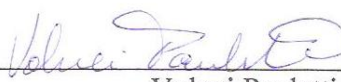
**TOLERÂNCIA DA ERVA MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) AO ALUMÍNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 30 de julho de 2012.



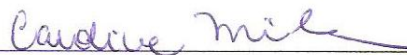
Haroldo Nogueira de Paiva



Volnei Pauletti



Ecila Mercês de Albuquerque Villani



Caroline Müller



Nairam Félix de Barros  
(Orientador)

*Dedico*

*Ao pai e a mãe, que mesmo com dificuldades e limitações  
me instruíram para a vida.*

*Ao Delmar, que sempre esteve comigo na caminhada para  
chegar até aqui. Pessoa maravilhosa que Deus colocou em  
meu caminho*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, por oportunizar a experiência da vida.*

*Ao professor Nairam Félix de Barros por transmitir ensinamentos técnicos e de vida principalmente através da paciência, compreensão, organização, seriedade e humildade.*

*Aos co-orientadores Júlio César Lima Neves e Hermínia Prieto Martínez pela ajuda e sugestões para esse trabalho.*

*A todos os professores pelo conhecimento transmitido.*

*Aos funcionários do Departamento de Solos, em especial a Luciana, Claudinha, Cardoso, Beço, Poliana, Carlinhos e Carlos Fonseca.*

*A Capes e Fapemig pela concessão da bolsa.*

*Aos estagiários Greice, Igor, Lucas e Guilherme pela grande ajuda.*

*A UFSC em especial a Fernanda, Aline e professor Marcelo Maraschin pelo auxílio nas análises de fenólicos.*

*A Sara, Thiago, Cristiano e professora Luzimar da Anatomia Vegetal pelos ensinamentos e ajuda no preparo das lâminas.*

*Aos amigos que ganhei nesses quatro anos, os quais fizeram a caminhada ser mais leve e alegre. Em especial a Aline, Anderson, André, Bárbara, Carol, Caparelli, Edvânia, Eric, Fernandinha e Ricardo.*

*Aos velhos amigos, pelo apoio.*

*Aos recentes amigos do IFSC pela compreensão durante os últimos meses.*

*Ao amigo de todas as horas, Delmar.*

*As minhas queridas irmãs e amigas, Adriana e Carla pela torcida e incentivo.*

*Aos meus sobrinhos Natália, Matias e Gabriel, por fazerem minha vida mais alegre.*

*Aos meus pais, por tudo que fizeram por mim.*

*Quando O Verso Vem Prás Casa*

*Luiz Marengo*

*A calma do tarumã, ganhou sombra mais copada  
Pela várzea espichada com o sol da tarde caindo  
Um pañuelo maragato se abriu no horizonte  
Trazendo um novo reposte, prá um fim-de-tarde bem lindo*

*Dáí um verso de campo se chegou da campereada  
No lombo de uma gateada frente aberta de respeito  
Desencilhou na ramada, já cansado das lonjuras  
Mas estampando a figura, campeira, bem do seu jeito*

*Cevou um mate pura-folha, jujado de maçanilha  
É um ventito da coxilha trouxe coplas entre as asas  
Prá querência galponeira, onde o verso é mais caseiro  
Templado a luz de candeieiro e um "quarto gordo nas brasa"*

*A mansidão da campanha traz saudade feito açoite  
Com olhos negros de noite que ela mesma querenciou  
É o verso que tinha sonhos prá rondar na madrugada  
Deixou a cancela encostada e a tropa se desgarrou*

*É o verso sonhou ser várzea com sombra de tarumã  
Ser um galo prás manhãs, ou um gateado prá encilha  
Sonhou com os olhos da prenda vestidos de primavera  
Adormecidos na espera do sol pontear na coxilha*

*Ficaram arreios suados e o silêncio de esporas  
Um cerne com cor de aurora queimando em fogo de chão  
Uma cuiá e uma bomba recostada na cambona  
É uma saudade redomoná pelos cantos do galpão*

## BIOGRAFIA

Eliziane Luiza Benedetti é filha de Darcy Luiz Benedetti e Salette Maria Benedetti, nasceu em 14 de maio de 1981 no município de Espumoso – RS. Em 2001 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria - RS, onde se formou em 2006. Ano em que iniciou o mestrado em Ciência do Solo pela Universidade Federal do Paraná – PR.

Em 2008 deu início ao doutorado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa - MG, concluído em 2012. Neste mesmo ano iniciou a carreira de docente no Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Canoinhas - SC, onde ministra disciplinas no curso de Produção Vegetal Agroecológica.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO 1 -TOLERÂNCIA DIFERENCIAL DE CLONES DE ERVA-MATE AO ALUMÍNIO .....</b>	<b>8</b>
INTRODUÇÃO .....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
Crescimento.....	12
Absorção de nutrientes.....	15
Características fisiológicas.....	19
CONCLUSÕES .....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
APÊNDICE .....	30
<b>CAPÍTULO 2 - ALUMÍNIO ESTIMULA O CRESCIMENTO RADICULAR DE ERVA-MATE.....</b>	<b>33</b>
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
CONCLUSÕES .....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
<b>CAPÍTULO 3 - TOLERÂNCIA DA ERVA-MATE AO ALUMÍNIO RELACIONADA À PRESENÇA DE BORO E DE FENÓLICOS.....</b>	<b>51</b>
INTRODUÇÃO .....	52
MATERIAL E MÉTODOS.....	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
Crescimento.....	55
Status nutricional .....	59
Composição Fenólica.....	62
CONCLUSÕES .....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>72</b>



## RESUMO

BENEDETTI, Eliziane Luiza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Tolerância da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) ao alumínio.** Orientador: Nairam Félix de Barros. Coorientadores: Julio César Lima Neves e Hermínia Emília Prieto Martinez.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma espécie que ocorre naturalmente em solos com altos teores de Al. Esse elemento, normalmente é tóxico para a maioria das espécies, prejudicando seu crescimento. No entanto, há espécies que melhoram seu crescimento na sua presença, indício de tolerância. Os compostos fenólicos, além da ação terapêutica, podem estar relacionados à tolerância da erva-mate ao Al. Papel semelhante tem sido atribuído ao boro. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a tolerância de clones de erva-mate ao Al e a participação do boro e dos compostos fenólicos na tolerância. Para isso, instalaram-se dois experimentos em casa de vegetação em sistema hidropônico com mudas clonais de erva mate, em que os tratamentos foram distribuídos em blocos casualizados e repetidos quatro vezes. No primeiro experimento, testaram-se três clones (F02, A35 e A07) e cinco doses de Al (0, 100, 500, 1000 e 2000  $\mu\text{mol/L}$  de Al) durante 50 dias. Determinaram-se características de crescimento de parte aérea e radicular, absorção de nutrientes e trocas gasosas. Houve estímulo ao crescimento da parte aérea e de raízes e das trocas gasosas até certas doses de Al, mesmo com diminuição no teor de P e Ca foliar, porém a magnitude da resposta e a forma de reação diferiram entre clones. A taxa de alongamento das raízes e a matéria seca radicular são bons indicadores da tolerância da erva-mate ao Al. O acúmulo de Al nas raízes mostra-se importante para tolerância da erva-mate a esse elemento. No segundo experimento, as mudas de erva-mate foram mantidas durante 80 dias em solução nutritiva, com os tratamentos: -B-Al (sem aplicação de B e Al); +B-Al (92,6  $\mu\text{mol/L}$  de B e 0  $\mu\text{mol/L}$  de Al); -B+Al (0  $\mu\text{mol/L}$  de B e 1000  $\mu\text{mol/L}$  de Al) e +B+Al (92,6  $\mu\text{mol/L}$  de B e 1000  $\mu\text{mol/L}$  de Al). Determinaram-se características de crescimento, status nutricional e compostos fenólicos. Não houve grandes alterações no status nutricional, e o crescimento foi favorecido pelo efeito sinérgico do B e Al. O aumento de galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico na presença do Al, podem estar relacionados à tolerância da erva-mate ao Al.

## ABSTRACT

BENEDETTI, Eliziane Luiza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Mate (*Ilex paraguariensis* St Hill.) tolerance to aluminum.** Adviser: Nairam Félix de Barros. Co-advisers: Julio César Lima Neves and Hermínia Emília Prieto Martinez.

Mate (*Ilex paraguariensis*) grows naturally in soils with high content of aluminum. Aluminum is toxic to most plant species, impairing their growth. However, there are species which grow better in presence of relatively high aluminum content, what can be considered an indication of tolerance to this element. Mechanisms of tolerance to aluminum may vary among plant genotypes and phenols are suggested as being involved in this process in mate. Similarly, boron nutrition may take part in the process as it influences phenol synthesis by the plants. Therefore, this study aimed to evaluate differential tolerance of mate clones and the involvement of boron and phenolic compounds in the tolerance of mate seedlings to aluminum. Two trials were carried out in nutrient solution under greenhouse conditions. In the first, seedling of three mate clones (F02, A35 and A07) were grown in solutions containing 0, 100, 500, 1000 and 2000  $\mu\text{mol/L}$  Al during 50 days. Increasing Al in the solution, to a certain concentration, enhanced mate shoot and root growth, photosynthesis rate and stomata conductance but decreased phosphorus and calcium foliar concentrations. The response pattern and intensity varied with clone. Plants accumulated aluminum in the roots avoiding its transport to the shoot, which could be a strategy to tolerate high aluminum concentration in the growing solution. This study showed that root length and dry matter are good indicators of mate aluminum tolerance. In the second study, mate seedlings were submitted to a factorial combination (presence or absence) of aluminum and boron in the nutrient solution for 80 days. Boron was supplied at the concentration of 92.6  $\mu\text{mol/L}$  and aluminum at the concentration of 1000  $\mu\text{mol/L}$ . There were no significant changes in the nutritional status of the plants, but a synergetic effect of boron and aluminum was observed on seedling growth. Aluminum favored the increase of gallic acid, epigallocatechin gallate and chlorogenic acid concentrations in the leaves and it is suggested that these compounds may be involved in mate tolerance to aluminum.

## INTRODUÇÃO GERAL

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é nativa da América do Sul e tem sua área de ocorrência natural restrita ao Brasil, Paraguai e Argentina. No Brasil sua ocorrência distribui-se entre os Estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Mato Grosso do Sul e em pequenas áreas nos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro (Oliveira e Rotta, 1985; Carvalho, 1994). A erva-mate pode ser considerada produto característico dos estados do Sul do Brasil, sendo consumida sob a forma de chimarrão diariamente pelo público cativo dessa região (Rocha Jr. e Miloca, 2007).

Espécie perene, com porte arbóreo e grande longevidade, tolera a sombra crescendo naturalmente nas associações mais evoluídas dos pinhais (Carvalho, 2003), além de apresentar mecanismos morfofisiológicos que permitem seu cultivo a pleno sol (Rakocevic et al., 2011). Os solos de sua ocorrência são caracterizados de fertilidade baixa e muito ácidos (Carvalho, 2003). Espécies que se desenvolvem naturalmente em solos ácidos, como a erva-mate, toleram altos níveis de Al (Reissmann et al., 1999) e apresentam elevados teores foliares deste elemento (Santin, 2008).

O alumínio não é essencial ao crescimento vegetal, sendo o principal sintoma de sua toxicidade observada pela inibição do crescimento da raiz (Cambraia et al., 1991; Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995), reduzindo o crescimento como um todo (Furtini Neto et al., 1999). O crescimento radicular tem sido amplamente utilizado como indicador de tolerância ao Al (Alves et al., 2004) e sua inibição é uma das características que podem variar entre espécies tolerantes e sensíveis (Kochian, 1995). No entanto, o efeito positivo observado no crescimento de algumas espécies (Osaki et al., 1997; Chen et al., 2011) pode ser decorrente de algum mecanismo de adaptação (Silva et al., 2002) que permite a expressão de alguma possível função fisiológica deste elemento (Chen et al., 2011). Outro aspecto constatado nos estudos é a possível diferença na tolerância ao Al entre materiais genéticos.

Alguns nutrientes podem interferir na tolerância das espécies ao Al, como é o caso do B. A similaridade entre a forma química de B e Al no interior da planta (Kochian, 1995), aliada aos sintomas de toxidez por Al e deficiência de B serem semelhantes (Brown et al. 2002), sugerem que o fornecimento adicional de B pode diminuir a toxicidade por Al (Lenoble et al., 1996a,b). No entanto, a investigação dessa hipótese tem apresentado resultados conflitantes. Em trigo, a adição de B não foi capaz de atenuar a toxidez por Al (Taylor e Macfie, 1994). Porém, em abobrinha e alfafa (Lenoble et al., 1996a,b), macieira (Wojcik, 2003), feijão (Stass et al., 2007) e feijão

mungo (Yang e Zhang, 1998) houve efeito positivo do B na diminuição dos sintomas de toxicidade por Al.

A disponibilidade de nutrientes afeta não somente o metabolismo primário, mas também influencia a produção de diferentes metabólitos secundários (Gershenzon, 1984). Em solos pobres em nutrientes geralmente verifica-se maior produção de metabólitos secundários, particularmente derivados de fenólicos (Gershenzon, 1984; Dustin e Cooper-Driver, 1992), os quais têm se destacado pela sua diversidade e quantidade em folhas de erva-mate (Heck e Mejia, 2007). Esta classe de compostos secundários tem sido descritos como responsáveis pela alta atividade antioxidante atribuída à espécie (Bravo et al., 2007). O consumo de antioxidantes pelos humanos é associado à menor incidência de doenças relacionadas com estresse oxidativo, como câncer e doenças neurodegenerativas (Milioli et al., 2007; Mejia et al., 2010). Assim, a erva-mate é classificada como alimento saudável devido as suas propriedades funcionais (Morais et al., 2009; Anesini et al., 2012) e medicinais (Mejía et al., 2010; Lückemeyer et al., 2012).

Compostos fenólicos formam fortes complexos com o Al em pH neutro, sendo essa capacidade de complexar metais indicativo de sua relação com a tolerância ao Al (Ofei-Manu et al., 2001). Maiores concentrações de compostos fenólicos foram encontradas em algumas espécies tolerantes ao Al (Barceló e Poschenrieder, 2002), e têm sido associadas com a tolerância ao Al nas raízes de algumas plantas lenhosas (Ofei-Manu et al., 2001). Em genótipo de milho tolerante ao Al, a exsudação de catequina e quercetina aumentou com o aumento da concentração externa de Al (Kidd et al., 2001), sendo que o Al se liga a catequina pelo C-3 e C-4 do grupo hidroxila (Inoue et al., 2002; Chen et al., 2006).

Para a erva-mate, mesmo que esta ocorra em solos muito ácidos, até o momento não há estudos direcionados à questão de sua possível tolerância ao Al, assim como, se os compostos fenólicos e o B minimizam o efeito tóxico do Al na planta.

Em vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar se a erva-mate é tolerante ao Al, e a participação dos compostos fenólicos e do boro na tolerância. Para isso, estruturou-se o trabalho em três capítulos. No primeiro e segundo avaliou-se a possível tolerância através de avaliações de crescimento, tanto de parte aérea quanto das raízes, absorção de nutrientes e trocas gasosas. O terceiro capítulo apresenta evidências de que alguns compostos fenólicos podem estar envolvidos na tolerância da erva-mate ao Al.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. M. C.; PITTA, G. V. E.; PARENTONI, S. N.; SCHAFFERT, R. E.; COELHO, A. M.; MAGALHÃES, J. V. de. Toxidez por alumínio e hidrogênio no crescimento de raízes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 3:311-318, 2004.

ANESINI, C.; TURNER, S.; COGOI, L.; FILIP, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). **LWT. Food Science and Technology**, 45: 299-304, 2012.

BALIGAR, V. C., ANGHINONI, I., PITTA, G. V. E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, 18:2325-2338, 1995.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, 48:75-92, 2002.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**, 40:393-405, 2007.

BROWN, P.H.; BELLALOU, N.; WIMMER, M.; BASSIL, E.S.; RIUZ, J.; HU, H.; PFEFFER, H.; DANDEL, F.; RÖMHELD, V. Boron in plant biology. **Plant Biology**, 4:205-227, 2002.

CAMBRAIA, J.; SILVA, M. A.; CANO, M. A. O.; SANT'ANNA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 3:87-95, 1991.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, v. 1, 2003. 1039p.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Curitiba: EMBRAPA/CNP, Florestas, 1994. 641 p.

CHEN, Y. M.; TSAO, T. M.; LIU, C. C.; LINC, K. C.; WANG, M. K. Aluminium and nutrients induce changes in the profiles of phenolic substances in tea plants (*Camellia sinensis* CV TTES, No. 12 (TTE)). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 91: 1111–1117, 2011.

CHEN, Y.M.; WANG, M.K.; HUANG, P.M. Catechin transformation as influenced by aluminum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54:212-218, 2006.

DUSTIN, C. D.; COOPER-DRIVER, G. A. Changes in phenolic production in the hay-scented fern (*Dennstaedtia punctilobula*) in relation to resource availability. **Biochemical Systematics and Ecology**, 20:99-106, 1992.

FRÁGUAS, J. C. Efeito do alumínio no comprimento de raízes e na absorção de fósforo e cálcio em porta enxertos de videira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 17:251-255, 1993.

FURTINI NETO, A. E.; RESENDE, A. V.; VALE, F. R.; FAQUIN, V.; FERNANDES, L. A. Acidez do solo, crescimento e nutrição mineral de algumas espécies arbóreas, na fase de muda. **Revista Cerne**, 5:1-12, 1999.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolite production under water and nutrient stress. **Recent Advances in Phytochemistry**, 18:273-320, 1984.

HECK, C.I.; MEJIA, E.G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. **Journal of Food Science**, 72:138-151, 2007.

KIDD, P. S.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. **Does root exudation of phenolics play a role in aluminum resistance in maize (*Zea mays* L.)**. In: HORST, W. J.; SCHENR, M. K.; BURKERT, A. et al. Plant Nutrition: Food security and sustainability of agro-ecosystems, through basic and applied research. Dordrecht: Kluwer, 2001. p. 504-505.

KOCHIAN, L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 46:237-260, 1995.

INOUE, M. B.; INOUE, M.; FERNANDO, Q.; VALCIC, S.; TIMMERMANN, B.N. Potentiometric and <sup>1</sup>H NMR studies of complexation of Al<sup>3+</sup> with (-)-epigallocatechin gallate, a major active constituent of green tea. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 88:7-13, 2002.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; MILES, R.J. Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. II. Stimulation of root growth in an acid, high-aluminium subsoil. **Plant Cell Environment**, 19:1143-1148, 1996b.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; SHARP, R.E.; CUMBIE, B.G. Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. I. Maintenance of root elongation and cellular structure. **Plant Cell Environment**, 19:1132-1142, 1996a.

LÜCKEMEYER, D.D.; MÜLLER, V.D.M.; MORITZ, M.I.G.; STOCO, P.H.; SCHENKEL, E.P.; BARARDI, C.R.M.; REGINATTO, F.H.; SIMÕES, C.M.O. Effects of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Yerba Mate) on herpes simplex virus types 1 and 2 replication. **Phytotherapy Research**, 26:535-540, 2012.

MEJIA, E.G.; SONG, Y.S.; HECK, C.I.; RAMIREZ-MARES, M.V. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **Journal of Functional Foods**, 2:23-34, 2010.

MILIOLI, E.M.; COLOGNI, P.; SANTOS, C.C.; MARCOS, T.D.; YUNE, V.M.; FERNANDES, M.S.; SCHOENFELDER, T.; COSTACAMPOS, L. Effect of acute administration of hydroalcohol extract of *Ilex paraguariensis* St. Hilarie (Aquifoliaceae) in animal models of Parkinson's disease. **Phytotherapy Research**, 21:771-776, 2007.

MORAIS, E.C.; STEFANUTO, A.; KLEIN, G.A.; BOAVENTURA, B.C.B.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; DI PIETRO, P.F.; MARASCHIN, M.; SILVA, E.L. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57:8316-8324, 2009.

OFEI-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, 47:359-375, 2001.

OLIVEIRA, Y.M.M. de; ROTTA, E. Área de distribuição geográfica nativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 1985, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1985. p.17-36.

OSAKI, M.; WATANABE, T.; TADANO, T. Beneficial effect of aluminum on growth of plants adapted to low pH soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, 43: 827-837, 1997.

RAKOCEVIC, M.; BORSATO, A.V.; BONA, C.; MEDRADO, M. J. S. Distribuição de estômatos em folhas de diferentes idades de erva-mate cultivada em monocultura e sub-bosque. In: CONGRESSO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 5. Posadas, 2011, **Anais...** Posadas: INYM/ INTA/INaM, 2011. p. 45-50.



REISSMANN, C. B.; RADOMSKI, M. I.; QUADROS, R. M. B. de. Chemical composition of *Ilex paraguariensis* St. Hil. Under different management conditions in seven localities of Paraná State. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 42:187-194, 1999.

ROCHA JÚNIOR, W.F.; MILOCA, L.M. **Sistema Agroindustrial Ervateiro: perspectivas e debates**. Cascavel: Coluna do Saber, 2007. 206 p.

SANTIN, D. **Produtividade, teor de minerais, cafeína e teobromina em erva-mate adensada e adubada quimicamente**. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. **Physiological aspects of aluminium toxicity and tolerance in plants**. In: ALVAREZ V, V.H.; SCHAEFER, C.E. G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds.). *Tópicos em Ciência do Solo*, vol II, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.277-316.

STASS, A.; KOTUR, Z.; HORST, W.J. Effect of boron on the expression of Aluminium toxicity in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, 131: 283-290, 2007.

TAYLOR, G.J.; MACFIE, S.M. Modeling the potential for amelioration of aluminium toxicity using the weibull function. **Canadian Journal of Botany**, 72:1187-1196, 1994.

WOJCIK, P. Impact of boron on biomass production and nutrition of aluminium-stressed apple rootstocks. **Journal of Plant Nutrition**, 26:2439-51, 2003.

YANG, Y.H.; ZHANG, H.Y. Boron amelioration of aluminum toxicity in mungbean seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, 21:1045–1054, 1998.

**CAPÍTULO 1**  
**TOLERÂNCIA DIFERENCIAL DE CLONES DE ERVA-MATE AO ALUMÍNIO**

## INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é uma espécie arbórea, típica das regiões subtropicais da América do Sul e apresenta grande importância sócio-econômica, especialmente para os Estados da região Sul do Brasil. É utilizada principalmente na produção de bebidas, com grande potencial para outras aplicações na indústria (Maccari e Mazuchowski, 2000). Apresenta propriedade estimulante, diurética, antioxidante e protetora de processos degenerativos, como os envolvidos no desenvolvimento de doenças cardiovasculares e nos danos ao DNA (Heck e Mejia, 2007; Machado et al., 2007).

A espécie ocorre naturalmente em solos de baixa fertilidade, com baixos teores de cátions trocáveis, altos teores de Al e pH ácido (Carvalho, 2003). Tem sido descrita por desenvolver normalmente na presença de altos teores de Al no solo (Santin et al., 2012 b), e comumente apresenta elevados teores foliares deste elemento (Reissmann et al., 1983; Radomski et al., 1992; Fossati, 1997; Reissmann et al., 1999; Oliva, 2007), próximos ou até superiores aos 1000 mg/kg, o que permite considerá-la como tolerante ao Al (Chenery e Sporne, 1976). Contudo, há poucas informações específicas sobre essa possível tolerância e, ou, efeito benéfico do Al.

Normalmente, o Al é considerado um elemento tóxico para as plantas (Foy et al., 1978, Beutler et al., 2001). Entretanto, sob condições especiais, como baixas concentrações no meio de cultivo, o Al pode induzir aumento no crescimento vegetal (Huang e Bachelard, 1993; Salvador et al., 2000; Silva et al., 2002; Mattiello et al., 2008). Respostas favoráveis de algumas espécies à presença do Al podem ser decorrentes de mecanismos de adaptações que lhes permitem desenvolver-se nesse ambiente. Dentre os possíveis mecanismos têm-se a quelatação do Al no citosol, compartimentalização nos vacúolos, imobilização nas paredes celulares (Taylor, 1988), complexação por ácidos orgânicos (Delhaize et al., 1993) e, ou, compostos fenólicos (Ofei-Manu et al., 2001).

Vários são os sintomas da toxicidade causada pelo Al, sendo a inibição do crescimento da raiz o primeiro sintoma visível (Cambráia et al., 1991; Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995) e, posteriormente, ocorre redução do crescimento vegetal como um todo (Furtini Neto et al., 1999). Comumente a presença do Al reduz a absorção de elementos essenciais (Schaedle et al., 1989), como observado para o Ca em eucalipto (Huang e Bachelard, 1993) e Ca e P em café (Pavan e Bingham, 1982). Desta forma, a habilidade das plantas em adquirir nutrientes na presença do Al pode ser usada como

critério para diferenciar espécies ou variedades quanto à tolerância ao Al (Bennet et al., 1986).

Características fisiológicas também são afetadas pelo Al. Em algumas espécies, observou-se que a toxidez do Al afeta as trocas gasosas, com redução na condutância estomática e na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (Akaya e Takenaka, 2001; Chen et al., 2005; Konrad et al., 2005). Em espécies ou cultivares mais tolerantes, a fotossíntese é menos afetada, pois a planta pode apresentar estratégias de adaptação do aparato fotossintético de acordo com a duração do estresse (Peixoto et al., 2002).

Apesar das evidências da possível tolerância ao Al pela erva-mate, atualmente não há informações a respeito do efeito desse elemento sobre esta espécie. Em vista disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a tolerância de clones de erva-mate ao Al.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido em casa de vegetação com mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), com aproximadamente quatro meses de idade, cultivadas em sistema hidropônico. Foram testados três clones: clone 1 (C1) procedente de São Mateus do Sul - PR, clone 2 (C2) e clone 3 (C3) procedentes de Bocaiúva do Sul - PR, cujas mudas foram produzidas por miniestaquia.

As mudas cresceram em tubetes preenchidos com substrato, constituído de partes iguais de vermiculita, casca de arroz carbonizada e substrato comercial a base de casca de pinus, até atingirem a altura de aproximadamente 6 cm. Ao serem transferidas para solução nutritiva as raízes das plantas foram lavadas em água deionizada, para remover totalmente o substrato aderido. A solução nutritiva utilizada foi a de Wendling et al. (2007) modificada. A concentração dos macronutrientes (mmol/L) e dos micronutrientes (μmol/L) e as respectivas fontes utilizadas foram: N = 8,86 (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O); P = 0,48 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); K = 3,58 (KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); Ca = 3,00 (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O); Mg = 1,36 (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O); S = 1,87 (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); B = 46,30 (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>); Cu = 7,87 (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O); Mn = 36,43 (MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O); Zn = 15,30 (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O); Fe = 90,00 (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) e Mo = 0,73 (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>. 2H<sub>2</sub>O). Esta solução foi utilizada com metade da força iônica.

As plantas foram mantidas na solução nutritiva durante 30 dias para aclimação. Após este período, adicionaram-se as doses de 0, 100, 500, 1000 e 2000 μmol/L de Al, na forma de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). O pH das soluções foi ajustado a cada

dois dias com HCl 0,1 mol/L ou NaOH 0,1 mol/L para 4,2 ( $\pm$  0,2). As soluções foram mantidas sob arejamento constante e substituídas a cada dez dias.

Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial (3x5), com três clones e cinco doses de Al, dispostos no delineamento blocos casualizados com quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3 L de solução contendo três plantas do mesmo clone.

As trocas gasosas foram medidas em folhas completamente expandidas, aos 48 e 49 dias após a aplicação dos tratamentos, no horário entre 8:00 e 12:00 h. A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), condutância estomática (gs), taxa de transpiração (E) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) foram determinadas por um analisador de gás por infravermelho (IRGA; modelo portátil LI-6400xt, LI-COR Biosciences Inc., Lincoln, Nebraska, USA). Utilizou-se radiação fotossinteticamente ativa constante (1 mmol/m<sup>2</sup>/s de fótons), concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (~ 391  $\mu$ mol/mol), temperatura ambiente (27-31 °C) e umidade entre 50 - 60 %.

Após 50 dias submetidas aos tratamentos, as plantas tiveram sua altura medida e, em seguida, foram separadas em raiz, folha e caule. Posteriormente, todos os órgãos foram lavados com água deionizada e secos em estufa a 65 °C, para determinação da matéria seca das folhas (MSF), do caule (MSC), da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR). Em seguida, o material foi moído, separadamente, em moinho tipo Wiley, para determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, Mn e Al, cujos conteúdos foram posteriormente calculados.

O teor de N foi determinado somente nas folhas, seguindo o método descrito por Bremner (1996). Os demais elementos foram determinados em todos os órgãos. O P foi determinado por colorimetria, pela redução do fosfomolibdato pelo ácido ascórbico (Braga e Deffelipo, 1974). O K foi dosado por fotometria de emissão em chama, e os demais por espectrofotometria de absorção atômica (Tedesco et al., 1995).

Após análise da variância, as características que foram significativamente afetadas pela interação dose x clone ou pela dose foram submetidas à análise de regressão. Já as características influenciadas somente pelo fator clone foram comparadas pelo teste de Tukey. Para as análises usou-se o software Sisvar (Ferreira, 2008). Os coeficientes de correlação foram calculados pelo uso do software Statistica 7. Para todas as análises considerou-se o nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Os valores de algumas características que não foram apresentadas e discutidas no texto encontram-se no Apêndice.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Crescimento

Todas as características de crescimento analisadas foram influenciadas pelas doses de Al, com modelos de comportamento que se diferenciou entre os clones (Figura 1).

A altura dos clones C2 e C3 apresentou relação quadrática com as doses de Al (Figura 1A), sendo a altura máxima (24,7 e 27,5 cm/planta) observada, respectivamente, nas doses de 1195 e 1194  $\mu\text{mol/L}$  de Al; para o C1, a relação foi linear positiva, com altura máxima de 10,4 cm, sendo o efeito do Al menos pronunciado. A produção de MSF do clone C1 e de MSC do clone C3 não foi influenciada pelos tratamentos (Figura 1B e C). Para o clone C2, maior produção de MSF (2,61 g/planta) foi obtida com adição de 1174  $\mu\text{mol/L}$  de Al, valor superior aos 402  $\mu\text{mol/L}$  de Al necessário para maximizar a produção (2,53 g/planta) do clone C3, o qual apresentou menor valor (2,01 g/planta) na dose 1598  $\mu\text{mol/L}$  de Al. A máxima produção de MSC dos clones C1 e C2 ocorreu respectivamente nas doses de 1350 e 1112  $\mu\text{mol/L}$  de Al. As maiores produções de MSPA foram obtidas nas doses de 1236, 1107 e 437  $\mu\text{mol/L}$  de Al, respectivamente, para os clones C1, C2 e C3 (Figura 1D) e, para o clone C3, a dose de mínima produção foi de 1750  $\mu\text{mol/L}$  de Al com ponto de inflexão em 1095  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1D). Para a MSR, obteve-se máxima produção de 0,33 g para os clones C1 e C3 e de 0,37 g para o C2, respectivamente nas doses de 1259, 1303 e 1295  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1E). Ocorreu correlação positiva entre a MSR e a MSPA em todos os clones, mas altamente significativa para o clone C2 (Tabela 1).

Sendo as raízes o primeiro órgão que sinaliza os efeitos do Al, maior produção de MSR observada em doses próximas a 1300  $\mu\text{mol/L}$  de Al pode ser devido ao seu efeito rizoestimulador o qual se dá pelo alívio na toxicidade por  $\text{H}^+$  (Kinraide, 1993). Como a redução do crescimento da parte aérea é uma consequência dos prováveis danos gerados pelo Al na raiz (Matsumoto et al., 1976), era esperado que menores produções de MSPA ocorressem em doses próximas daquelas que proporcionaram menor produção de MSR, conforme observado para os clones C1 e C2, na ausência de Al (Figura 1D e E). Esse comportamento não foi observado para o clone C3, que apresentou menor produção de MSR na ausência de Al; porém, a dose mais prejudicial para a MSPA foi de 1753  $\mu\text{mol/L}$  de Al.

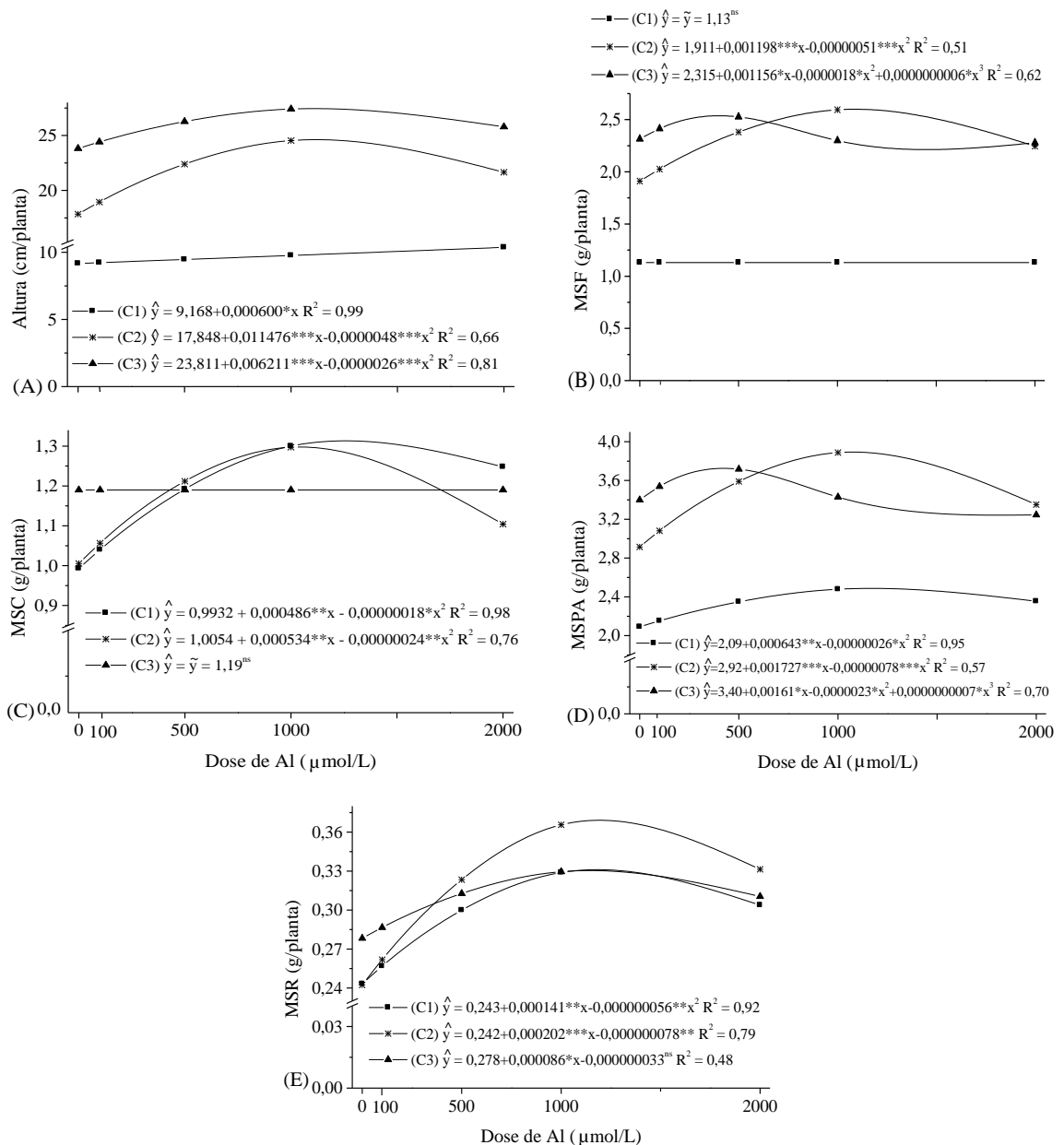


Figura 1: Altura (A); matéria seca da folha (MSF) (B), do caule (MSC) (C), da parte aérea (MSPA) (D) e da raiz (MSR) (E) de clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al. <sup>ns</sup>, \*, \*\* e \*\*\*, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.

Como nos clones C1 e C2 as doses de Al para a maior produção de raiz e parte aérea foram próximas, pode-se inferir que para esses clones a produção de MSR ou de MSPA está relacionada à raiz com boa capacidade de absorção de nutrientes. No entanto, para o clone C3, a dose de maior produção de raízes foi bem distinta daquela para a maior produção de MSPA, sinalizando que, em estudos de tolerância ao Al em erva-mate, a MSR isolada pode não ser boa indicadora de tolerância.

Tabela 1: Coeficientes de correlação linear simples entre a matéria seca da folha (MSF), da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA); teor foliar de fósforo (PF), cálcio (CaF) e alumínio (AlF); teor de Al no caule (AIC) e na raiz (AIR) e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A)

Variáveis	Clone	MSR	MSPA	PF	CaF	AlF	AIC	AIR	A
MSF	C1	ns	0,48*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	C2	0,82***	0,98***	ns	ns	0,52*	0,49*	0,77***	0,59**
	C3	ns	0,91***	ns	ns	ns	ns	ns	ns
MSR	C1	-	0,54*	ns	ns	0,68***	0,75***	0,76***	0,85***
	C2	-	0,85***	ns	ns	0,66**	0,62**	0,80***	0,73***
	C3	-	0,53*	ns	ns	ns	ns	0,53**	-0,47*
MSPA	C1	-	-	ns	ns	0,61***	0,66**	0,70***	0,72***
	C2	-	-	ns	ns	0,50***	0,47*	0,76***	0,62**
	C3	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
PF	C1	-	-	-	0,50*	-0,62***	-0,56**	-0,48**	-0,46*
	C2	-	-	-	ns	-0,75***	-0,77***	-0,50**	ns
	C3	-	-	-	0,67***	-0,76***	-0,81***	-0,71***	ns
CaF	C1	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
	C2	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
	C3	-	-	-	-	-0,57***	-0,66**	-0,63**	0,48*
AlF	C1	-	-	-	-	-	0,87***	0,94***	0,81***
	C2	-	-	-	-	-	0,99***	0,91***	0,62***
	C3	-	-	-	-	-	0,95***	0,95***	ns
AIC	C1	-	-	-	-	-	-	0,92***	0,79***
	C2	-	-	-	-	-	-	0,89***	0,63**
	C3	-	-	-	-	-	-	0,97***	ns
AIR	C1	-	-	-	-	-	-	-	0,83***
	C2	-	-	-	-	-	-	-	0,72***
	C3	-	-	-	-	-	-	-	-0,54*

\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1 % e <sup>ns</sup> não significativo a 5 %.

O maior crescimento observado na presença de Al, aliado às correlações positivas e altamente significativas entre teor de Al na folha, no caule e na raiz e características de crescimento, principalmente para os clones C1 e C2 (Tabela 1), reforçam as evidências da tolerância e benefício do Al no crescimento inicial de mudas de erva-mate. Efeito já retratado para várias espécies como *Psidium guajava* (Salvador et al., 2000), *Eucalyptus globulus*, *E. urophylla*, *E. dunnii*, *E. saligna*, *E. cloeziana*, *E. grandis* (Silva et al., 2004), *Apuleia leiocarpa* (Nicoloso et al., 2008), *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (Mattiello et al., 2008) e *Camellia sinensis* (Chen et al., 2011).

Porém, há poucas evidências de alguma função fisiológica do Al nas plantas (Kinraide, 1993). No entanto, o efeito positivo observado no crescimento de várias espécies e sobre o crescimento radicular de espécies acidófilas, de modo geral (Osaki et al., 1997), em plantas de chá (Chen et al., 2011), além dos observados neste trabalho,



indicam a necessidade de melhor compreender as possíveis funções fisiológicas benéficas do Al em espécies adaptadas à presença desse elemento. De acordo com Asher (1991), o motivo do efeito benéfico do Al ainda ser apenas uma hipótese é devido à ausência de métodos confiáveis e sensíveis para sua determinação. Mesmo assim, Foy (1974) e Marschner (1995) sugerem algumas das possíveis causas do efeito benéfico, como a liberação de cátions adsorvidos em sítios metabolicamente inativos dentro da planta; o bloqueio de sítios na parede celular carregados negativamente, que promoveriam menor absorção de P e contribuiriam na prevenção da toxidez de Cu e Mn.

Ao se compararem as doses extremas de Al, maiores taxas de crescimento foram observadas para o clone C2, seguido pelo clone C1 (Figura 1). O clone C3 não apresentou ganho de MSF e de MSPA entre as doses extremas, e para as demais características os ganhos foram menores em comparação com os demais clones (Figura 1). Os clones C1 e C2 apresentaram máximo crescimento em doses próximas a 1100  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Já o C3 apresentou máximo crescimento de MSF e MSPA em doses em torno de 400  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Os valores máximos das demais características de crescimento foram obtidos em doses acima de 1100  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Esses resultados sugerem tolerância diferenciada entre os clones.

Mesmo que o clone C3 tenha apresentado maior sensibilidade a altas doses de Al em comparação com os demais, ele demonstrou maior vigor de crescimento na ausência e, ou, com doses menores de Al.

### **Absorção de nutrientes**

De maneira geral, o Al causou redução nos teores de P e Ca no tecido vegetal (Tabela 2). A relação foi linear negativa nos clones C1 e C3 para o teor de P e Ca na folha, assim como para o teor foliar de P e radicular de Ca no clone C2. A relação entre as doses de Al e o teor radicular de Ca foi quadrática para os clones C1 e C3 (Tabela 2). O teor de P na raiz não foi influenciado pelo Al, sendo maior no C1 (2,60 g/kg) e menor no C2 (2,40 g/kg). A redução nos teores foliares de P e Ca, na presença do Al, é frequentemente relatada na literatura (Schaedle et al., 1989; Huang e Bachelard, 1993; Braccini et al., 1998) e comprovada neste estudo também pela correlação negativa entre o teor de Al em todos os órgãos e o teor foliar de P em todos os clones, e entre o teor de Al em todos os órgãos e o teor foliar de Ca para o C3 (Tabela 1).

Tabela 2: Equação de regressão para os teores foliares de P (PF) e de Ca (CaF), radicular de Ca (CaR) e de P (PR) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
PF	C1	$\hat{y} = 0,96 - 0,000175***x$	0,91
	C2	$\hat{y} = 1,29 - 0,000307***x$	0,88
	C3	$\hat{y} = 1,04 - 0,000188***x$	0,94
CaF	C1	$\hat{y} = 6,85 - 0,000237*x$	0,45
	C2	$\hat{y} = \bar{y} = 6,90^{ns}$	-
	C3	$\hat{y} = 6,86 - 0,000311***x$	0,56
CaR	C1	$\hat{y} = 4,15 - 0,002074***x - 0,000001***x^2$	0,74
	C2	$\hat{y} = 3,52 - 0,000368***x$	0,60
	C3	$\hat{y} = 3,88 - 0,001420***x + 0,00000048***x^2$	0,75
PR <sup>2/</sup>	-	$\hat{y} = 2,17 + 0,006215***x - 0,000009***x^2 + 0,0000000289***x^3$	0,96

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1 % e <sup>ns</sup> não significativo a 5 %; <sup>2/</sup>Média dos três clones.

O teor foliar de P variou de 0,6 a 1,3 g/kg, sendo inferior aos 1,7 g/kg de P necessários para máxima produção de matéria seca total em plantas jovens de erva-mate (Santin et al., 2012a). Os baixos teores foliares de P (Tabela 2) e no conteúdo (Tabela 3) demonstram a forte influência do Al na absorção de P pela erva-mate, resultante da interação Al-P a qual favorece a precipitação do P na forma de AlPO<sub>4</sub> insolúvel e, ou, sua adsorção por hidróxi-Al na superfície da raiz ou no espaço livre intercelular (Vázquez et al., 1999) dificultando, assim, a absorção de P.

Dessa forma, o uso eficiente de P pode estar relacionado à tolerância ao Al (Gaume et al., 2001; Zheng et al., 2005), ou ser resultante do efeito benéfico que este pode proporcionar aumentando a disponibilidade de P ao bloquear sítios potenciais de ligação do P na parede celular (Foy, 1974; Marschner, 1995). Já a toxidez pode estar associada ao acúmulo de P no sistema radicular e aos baixos teores na parte aérea (Macklon e Sim, 1992).

Não foi observado sintoma de deficiência de P, mesmo que o teor foliar foi inferior ao obtido por Santin et al. (2012a). Os teores de P na raiz foram próximos do apresentado por Santin et al. (2012 a), não demonstrando tendência de acúmulo nesse órgão. A correlação significativa e positiva entre o teor de P na raiz com a MSF e MSPA para os clones C2 (r = 0,52\* e 0,50\*) e C3 (r = 0,57\*\* e 0,69\*\*\*) pode indicar que nesses clones a interação Al-P teria sido mais expressiva na folha, e não nas raízes. Para *Camellia sinensis*, a localização de P e Al em locais diferentes das folhas indica que, nesse órgão, não houve interação entre eles (Tolrà et al., 2011), mas para o cafeeiro, o grau de tolerância ao Al foi associado à menor precipitação de P nas raízes e à menor redução de translocação para a parte aérea (Braccini et al., 1998).

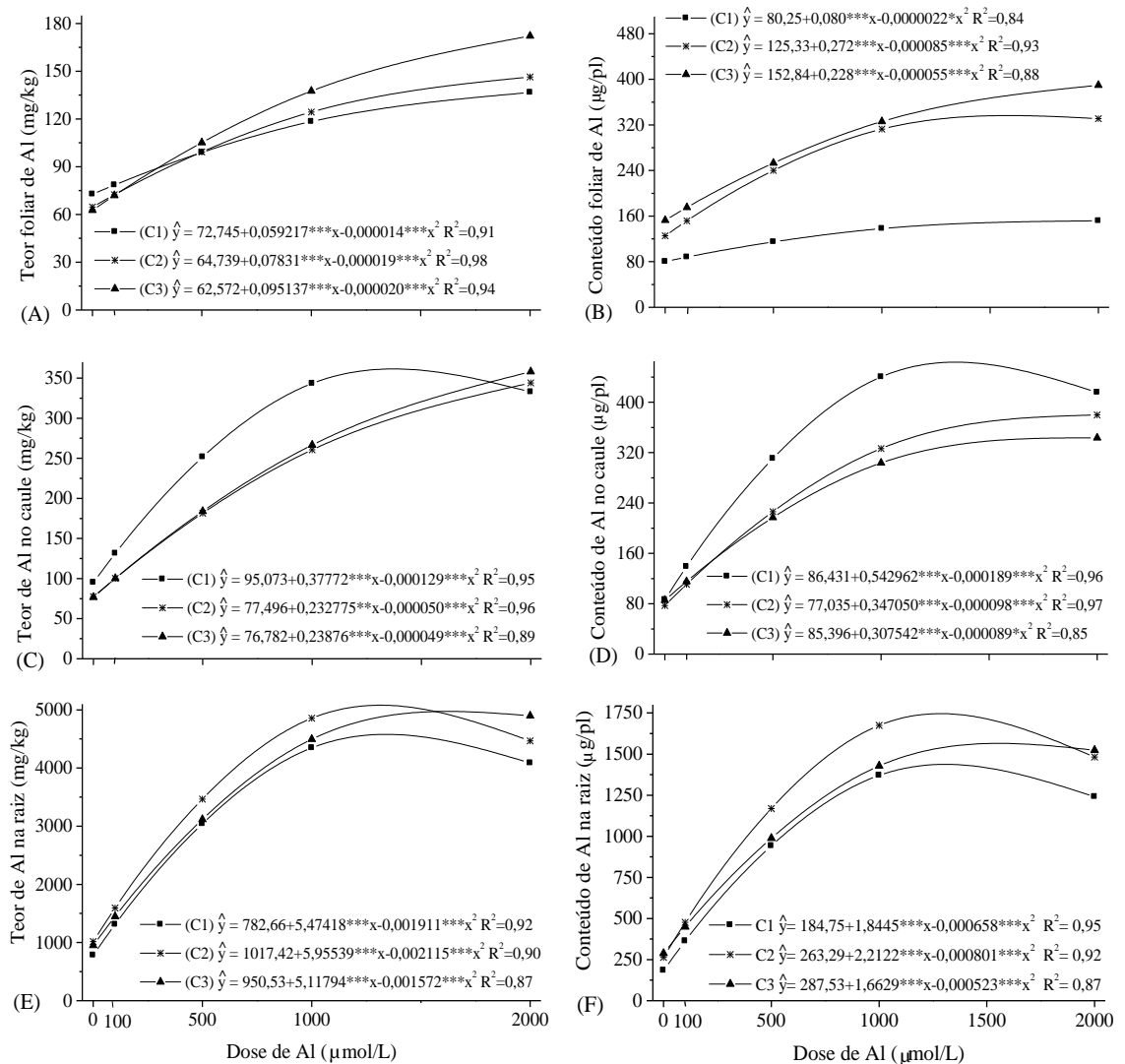
Tabela 3: Equação de regressão para o conteúdo foliar de P (CPF) e Ca (CCaF) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
CPF	C1	$\hat{y} = 1,09 - 0,000207***x$	0,73
	C2	$\hat{y} = 2,39 + 0,001324***x - 0,000001***x^2$	0,63
	C3	$\hat{y} = 2,49 - 0,000479***x$	0,87
CCaF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 7,55^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 13,21 + 0,007086***x - 0,000003***x^2$	0,54
	C3	$\hat{y} = 16,50 - 0,001108***x$	0,51

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo a 5 %.

A queda nos teores de Ca nas folhas e na raiz com o aumento das doses de Al pode ser decorrente do grande potencial competidor do Al pelos sítios de ligação eletrostática, conseguindo se ligar às pectinas muito mais fortemente que o Ca (Taylor et al., 2000). Assim, a capacidade de absorver e translocar Ca é indicativa da tolerância de plantas ao Al (Huang et al., 1992; Huang e Bachelard, 1993). Neste estudo, a falta ou a pouca influência das doses de Al no teor foliar de Ca do clone C2, seguido de C1 e C3, pode ser indicativa da ordem de tolerância ao Al (Tabela 2). Observação semelhante em cultivares de trigo foi relatada, sendo que nas mais sensíveis, a habilidade do Al em inibir a entrada e o transporte de Ca mostrou-se mais efetiva quando comparada às tolerantes (Huang et al., 1992; Ryan e Kochian, 1993).

O teor de Ca na raiz correlacionou-se com a MSR ( $r = - 0,60**$ ) e MSPA ( $r = - 0,56**$ ) apenas no clone C1. Em todos os clones, o teor de Ca na folha, para todas as doses de Al, e na raiz, nas menores doses de Al (Tabela 2), está acima do obtido por Santin et al. (2012 b) para máxima produção de parte aérea de erva-mate. No entanto, os maiores conteúdos foliares de Ca foram constatados no clone C2, em doses acima de 500  $\mu\text{mol/L}$  de Al, o qual se diferenciou do clone C3, que apresentou resposta linear negativa, e do clone C1, que não foi influenciado pelas doses de Al (Tabela 3). Estes resultados fortalecem os indícios de que o clone C2 pode apresentar maior tolerância ao Al em comparação com os outros dois.



**Figura 2:** Teor (A) e conteúdo foliar de Al (B), teor (C) e conteúdo de Al no caule (D), teor (E) e conteúdo de Al na raiz (F) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidas a doses de Al. \*, \*\* e \*\*\*, respectivamente significativo a 5, 1 e 0,1 %.

Quanto ao teor e conteúdo de Al, todos os clones apresentaram o mesmo comportamento em todos os órgãos da planta (Figura 2A, B, C, D, E e F). De maneira geral, os maiores conteúdos e teores foram observados na raiz, seguido pelo caule e folha. Na folha, o C3 apresentou maior teor, seguido pelo C2 e C1, contudo, os teores estão abaixo do comumente observado em plantas adultas (Reissmann et al., 1983; Radomski et al., 1992; Fossati, 1997; Reissmann et al., 1999; Oliva, 2007), e de acordo com o obtido para plantas jovens produzirem a máxima matéria da parte aérea (Santin et al., 2012 b). Os teores no caule, sob exposição às menores doses de Al estão de acordo com o obtido por Santin et al. (2012 b). Os maiores incrementos no conteúdo de Al na folha foram obtidos para o clone C2, seguido pelo C3 e C1; no caule e na raiz, a

sequência foi  $C1 > C2 > C3$ .

As proporções de Al folha/raiz, na dose onde houve o maior teor de Al na raiz, foram de 1:36, 1:38 e 1:31, respectivamente para os C1, C2 e C3. O acúmulo de Al na raiz por sua imobilização junto à parede celular (Taylor, 1988; Heim et al., 2000) pode ser um dos mecanismos de tolerância da erva-mate ao elemento, evitando que quantidades elevadas sejam translocadas para a parte aérea. O alto teor de Al na raiz não mostrou-se tóxico e esse acúmulo parece ser o mecanismo mais importante para os clones C1 e C2 tolerarem o Al. Isso é reforçado pela correlação positiva e altamente significativa entre o teor de Al na raiz e as características de crescimento e taxa de assimilação de  $CO_2$  (Tabela 1). O acúmulo de Al nas raízes é importante para seleção de clones com menor teor de Al na parte aérea. Assim, a tolerância da erva-mate ao Al, com acúmulo do elemento nas raízes, pode vir a ser uma característica desejável para a segurança alimentar do consumidor.

Acúmulo de Al no sistema radicular e a restrição do transporte para a parte aérea são importantes fatores na maior tolerância de plantas ao Al (Mattiello et al., 2008), fato também observado para *Eucalyptus mannifera* em relação ao *Pinus radiata* (Huang e Bachelard, 1993).

Ao contrário do observado em goiabeiras, em que o teor de Al no caule foi menor do que na folha (Salvador et al., 2000), na erva-mate o teor e conteúdo de Al no caule foi maior que na folha, indicando que o acúmulo em órgão de menor atividade fisiológica é importante fator na tolerância ao Al.

### **Características fisiológicas**

A presença do Al, até certas doses, favoreceu o aumento das trocas gasosas nos clones C1 e C2. Para o clone C3, a falta de Al proporcionou maior taxa de assimilação de  $CO_2$  e condutância estomática (Figura 2).

Houve aumento nas taxas de assimilação líquida de  $CO_2$  (A) para os clones C1 e C2, respectivamente, até as doses de 1520 e 919  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Esse aumento foi acompanhado do aumento da condutância estomática ( $g_s$ ), da concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ) e da transpiração (E) até doses, respectivamente, de 1059, 1236 e 804  $\mu\text{mol/L}$  de Al para o clone C1 e, de 1404, 1212 e 924  $\mu\text{mol/L}$  de Al para o C2 (Figura 2A, B, C e D). A partir dessas doses o Al prejudicou as trocas gasosas pelo fechamento estomático, diminuindo a concentração interna de  $CO_2$ . O clone C3 demonstrou comportamento diferenciado, uma vez que o maior valor de A e  $g_s$  foram observados na

testemunha, decrescendo respectivamente até as doses de 1079 e 1059  $\mu\text{mol/L}$  de Al, com posterior aumento, porém sem alcançar os valores observados na testemunha (Figura 2A e B). A Ci e E não foram influenciadas pelos tratamentos (Figura 3C e D).

Diminuição na assimilação de  $\text{CO}_2$  provocada pelo Al foi observada em várias espécies vegetais (Ridolfi e Garrec, 2000; Akaya e Takenaka, 2001; Peixoto et al, 2002; Chen et al., 2005; Jiang et al., 2008), podendo ser devida a fatores estomáticos e não estomáticos (Ridolfi e Garrec, 2000; Akaya e Takenaka, 2001; Peixoto et al, 2002; Chen et al, 2005; Jiang et al, 2008).

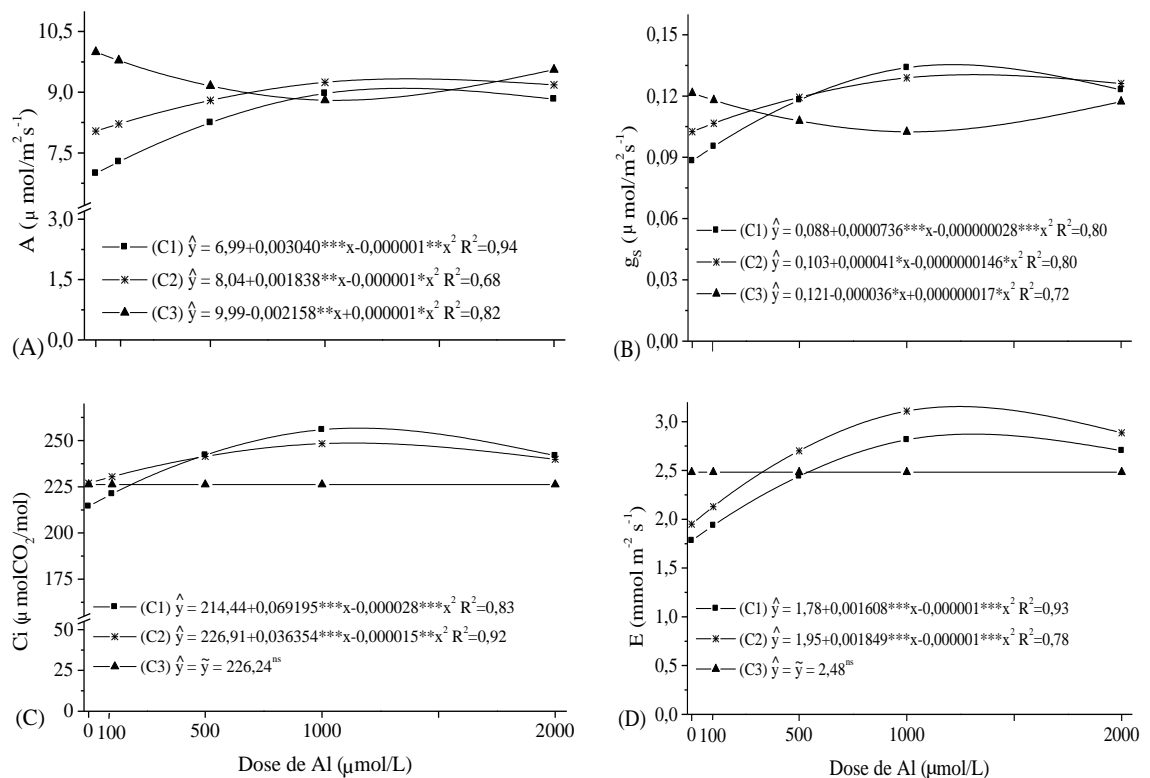


Figura 3: Taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  (A); condutância estomática -  $g_s$  (B); concentração interna de  $\text{CO}_2$  -  $C_i$  (C) e taxa transpiratória - E (D) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidas a doses de Al. <sup>ns</sup>, \*, \*\* e \*\*\*, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.

Estudos fisiológicos e bioquímicos mostram diminuição na fotossíntese proporcionada pelo estresse causado pelo Al (Chen et al., 2010) de forma menos efetiva, no entanto, em espécies ou cultivares mais tolerantes ao Al (Peixoto et al., 2002). Assim, pode-se inferir que o favorecimento do Al à assimilação de  $\text{CO}_2$  para os clones C1 e C2 e a correlação positiva entre teor de Al na folha e na raiz e taxa fotossintética (Tabela 1) seriam indícios da tolerância desses clones ao Al. A compartimentalização de Al em células epidérmicas, sem atividade fotossintética, observado em folhas de

*Camellia sinensis*, é considerada um mecanismo de tolerância ao Al (Tolrà et al., 2011) e pode justificar o aumento no conteúdo de Al foliar até certas doses (Figura 2B) sem prejuízo às trocas gasosas (Figura 3) para os clones C1 e C2.

No clone C3, o aumento na produção de MSF e da MSPA até doses próximas a 400  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1B e D) não foi acompanhado pelo aumento da assimilação de  $\text{CO}_2$  (Figura 3A). Como as avaliações de trocas gasosas são medidas pontuais, elas podem não refletir o resultado observado com a MSF e da MSPA, que são resultantes do crescimento acumulado desde o início do desenvolvimento das plantas.

## **CONCLUSÕES**

O alumínio proporcionou efeitos positivos ao crescimento de plantas jovens de erva-mate.

Clones de erva-mate possuem tolerância diferencial ao alumínio, sendo o clone C2 mais tolerante, seguido dos clones C1 e C3.

O acúmulo de alumínio nas raízes mostra-se uma importante estratégia da erva-mate na tolerância a esse elemento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHER, C.J. **Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements.** In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M.; WELCH, R.M., eds. *Micronutrients in Agriculture*. Madison, American Society of America, 1991. p.703-723.
- AKAYA, M.; TAKENAKA, C. Effects of aluminum stress on photosynthesis of *Quercus glauca* Thunb. **Plant and Soil**, 237:137-146, 2001.
- BALIGAR, V.C., ANGHINONI, I.; PITTA, G.V.E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, 18:2325-2338, 1995.
- BENNET, R.J.; BREEN, C.M.; FEY, M.V. Aluminium toxicity and induced nutrient disorders involving the uptake and transport of P, K, Ca and Mg in *Zea mays* L. **South African Journal of Plant and Soil**, 3:11-17, 1986.
- BEUTLER, N.; FERNANDES, L.A.; FAQUIN, V. Efeito do alumínio sobre o crescimento de duas espécies florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:923-928, 2001.
- BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; SAMPAIO, N.F.; PEREIRA, A.A. Tolerância de genótipos de cafeeiro ao alumínio em solução nutritiva. II. Teores de P, Ca e Al e eficiência ao P e Ca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 22:443-450, 1998.
- BRAGA, J.M.; DEFFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e plantas. **Ceres**, 21:73-85, 1974.
- BREMNER, J.M. **Nitrogen Total.** In: SPARTS, D. L., ed. *Methods of soil analysis*. Part 3 - Chemical Methods, 1996. p.1085-1121.



CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A.O.; SANT'ANNA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 3:87-95, 1991.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, V. 1, 2003. 1039p.

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; JIANG, H.X.; YANG, L.T.; YANG, G.H. Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. **African Journal of Biotechnology**, 9:9237-9247, 2010.

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; SMITH, B.R.; LIU, X.H. Aluminum-induced decrease in CO<sub>2</sub> in citrus seedlings is unaccompanied by decreased activities of key enzymes involved in CO<sub>2</sub> assimilation. **Tree Physiology**, 25:317-324, 2005.

CHEN, Y.M.; TSAO, T.M.; LIU, C.C.; LINC, K.C.; WANG, M.K. Aluminium and nutrients induce changes in the profiles of phenolic substances in tea plants (*Camellia sinensis* CV TTES, No. 12 (TTE)). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 91: 1111–1117, 2011.

CHENERY, E.M.; SPORNE, K.R. A note on the evolutionary status of Aluminium-accumulators among dycotyledons. **New Phytologist**, 76:551-554, 1976.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R.; RANDALL, P.J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. Aluminum stimulated excretion of malic acid from root apices. **Plant Physiology**, 103:695-702, 1993.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, 6:36-41, 2008.

FOSSATI, L.C. **Avaliação do estado nutricional e da produtividade de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), em função do sítio e da dioícia**. 1997. 113p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

FOY, C.D., CHANEL, R.L.; WRITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, 29:511-566, 1978.

FOY, C.D. **Effect of aluminum on plant growth**. In: CARLSON, F.W., ed. The plant root and its environment. Charlottesville, University Press of Virginia, 1974. p.601-640.

FRÁGUAS, J.C. Efeito do alumínio no comprimento de raízes e na absorção de fósforo e cálcio em porta enxertos de videira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 17:251-255, 1993.

FURTINI NETO, A.E.; RESENDE, A.V.; VALE, F.R.; FAQUIN, V.; FERNANDES, L.A. Acidez do solo, crescimento e nutrição mineral de algumas espécies arbóreas, na fase de muda. **Revista Cerne**, 5:1-12, 1999.

GAUME, A.; MÄCHLER, F.; FROSSARD, E. Aluminum resistance in two cultivars of *Zea mays* L.: root exudation of organic acids and influence of phosphorous nutrition. **Plant and Soil**, 234:73-81, 2001.

HECK, C.I.; MEJIA, E.G. de. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, 72:138-151, 2007.

HEIM, A.; LUSTER, J.; BRUNNER, I.; FREY, B.; FROSSARD, E. Effects of aluminium treatment on Norway spruce roots: Aluminium binding forms, element distribution, and release of organic substances. **Plant and Soil**, 216:103-116, 2000.

HUANG, J., BACHELARD, E.P. Effects of aluminium on growth and cation uptake in seedlings of *Eucalyptus mannifera* and *Pinus radiata*. **Plant and Soil**, 149:121-127, 1993.

HUANG, J.W.; SHAFF, J.E.; GRUNES, D.L.; KOCHIAN, L.V. Calcium fluxes in Al-tolerant and Al-sensitive wheat roots measured by Ca-selective microelectrodes. **Plant Physiology**, 98:230-237, 1992.

JIANG, H.X.; CHEN, L.S.; ZHENG, J.G.; HAN, S.; TANG, N.; SMITH, B. Aluminum-induced effects on photosystem II photochemistry in citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescence transient. **Tree Physiology**, 28:1863-1871, 2008.

KINRAIDE, T.B. Aluminium enhancement of plant growth in acid rooting medium: a case of reciprocal alleviation of toxicity by two toxic cations. **Physiologia Plantarum**, 88:619-625, 1993.

KONRAD, M.L.F.; SILVA, J.A.B. da.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, 64:339-347, 2005.

MACCARI, JR. A.; MAZUCHOWSKI, J. Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate Paraná MCT/CNPq/PROJETO PADCT Erva-Mate. Curitiba, 2000. 176p.

MACHADO, C.C.B.; BASTOS, D.H.M.; JANZANTTI, N.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; FRANCO, M.R.B. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, 30:513-518, 2007.

MACKLON, A.E.S.; SIM, A. Modifying effects of a non-toxic level of aluminium on phosphate fluxes and compartmentation in root cortex cells of intact ryegrass seedlings. **Journal of Experimental Botany**, 43:1483-1490, 1992.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, F.; TORIKAI, H.; TAKAHASHI, E. Localization of absorbed aluminium in pea root and its binding to nucleic acid. **Plant Cell Physiology**, 17:627-631, 1976.

MATTIELLO, E.M.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E.; MAURI, J.; MATIELLO, J.D.; MEIRELES, P.G.; SILVA, I.R. Produção de matéria seca, crescimento radicular e absorção de cálcio, fósforo e alumínio por *Coffea canephora* e *Coffea arabica* sob influência da atividade do alumínio em solução. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:425-434, 2008.

NICOLOSO, F.T.; FORTUNATO, R.P.; FOGAÇA, M.A de. F.; ZANCHETTI, F. Calagem e adubação NPKS: (I) Efeito no crescimento de mudas de grápia cultivadas em horizontes A e B de um Argissolo Vermelho distrófico arênico. **Ciência Rural**, 38:1596-1603, 2008.

OFEI-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, 47:359-375, 2001.

OLIVA, E.V. **Composição química e produtividade de procedências e progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivada em Latossolo vermelho distrófico no município de Ivaí - PR**. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

OSAKI, M.; WATANABLE, T.; TADANO, T. Beneficial effect of aluminium on the growth of tea plants adapted to low pH soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, 43:551-563, 1997.

PAVAN, M.A.; BINGHAM, F.T. Toxidez de alumínio em cafeeiros cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 17:1293-1302, 1982.

PEIXOTO, P.H.P.; DA MATTA, F.M.; CAMBRAIA, J. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, 25:821-832, 2002.

RADOMSKI, M.I.; SUGAMOSTO, M.L.; GIAROLA, N.F.B.; CAMPIOLO, S. Avaliação dos teores de macro e micronutrientes em folhas jovens e velhas de erva-mate nativa. **Revista do Instituto Florestal**, 4:453-456, 1992.

REISSMANN, C.B.; RADOMSKI, M.I.; QUADROS, R.M.B. de. Chemical composition of *Ilex paraguariensis* St. Hil. Under different management conditions in seven localities of Paraná State. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 42:187-194, 1999.

REISSMANN, C.B.; ROCHA, H.O.; KOEHLER, C.W.; CALDAS, R.L.S.; HILDEBRAND, E.E. Bio-elementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) sobre Cambissolo na região de Mandirituba – PR. **Floresta**, 14:49-54, 1983.

RIDOLFI, M.; GARREC, J.P. Consequences of an excess Al and a deficiency in Ca and Mg for stomatal functioning and net carbon assimilation of beech leaves. **Annals of Forest Science**, 57: 209-218, 2000.

RYAN, P. R.; KOCHIAN, L.V. Interaction between aluminum toxicity and calcium uptake at the root apex in near-isogenic lines of wheat (*Triticum aestivum*) differing in aluminum tolerance. **Plant Physiology**, 102:975-982, 1993.

SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E.; CABRAL, C.P. Influência do alumínio no crescimento e na acumulação de nutrientes em mudas de goiabeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 24:787-796, 2000.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; BASTOS, M.C.; KASEKER, J.F.; REISSMANN, C. B.; BRONDANI, G.E.; BARROS, N.F. Crescimento e nutrição de erva-mate influenciados pela adubação nitrogenada, fosfatada e potássica. **Ciência Florestal**. 2012a. No prelo.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; KASEKER, J.F.; BASTOS, M.C.; REISSMANN, C.B.; WENDLING, I.; BARROS, N.F. Nutrição e crescimento da erva-mate submetida à calagem. **Ciência Florestal**. 2012b. No prelo.

SCHAEDLE, M.; THORNTON, F.C.; RAYNAL, D.J.; TEPPER, H.B. Response of tree seedlings to aluminum. **Tree Physiology**, 5:337-356, 1989.

SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; JHAM, G.N.; BARROS, N.F.; GEBRIM, F.O.; NUNES, F.N.; NEVES, J.C.L.; LEITE, F.P. Responses of eucalypt species to aluminum: the possible involvement of low molecular weight organic acids in the Al tolerance mechanism. **Tree Physiology**, 24:1267-1277, 2004.

SILVA, I.R.; SMYTH, T.J.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. **Physiological aspects of aluminium toxicity and tolerance in plants**. In: ALVAREZ V,V.H.; SCHAEFER, C.E. G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds.). Tópicos em Ciência do Solo, V. 2, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.277-316.

TAYLOR, G.J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, 19:1179-1194, 1988.

TAYLOR, G.J.; MCDONALD-STEPHENS, J.L.; HUNTER, D.B.; BERTSCH, P.M.; ELMORE, D.; RENGEL, Z.; REID, R.J. Direct measurement of aluminum uptake and distribution in single cells of *Chara coralline*. **Plant Physiology**, 123: 987-996, 2000.

TEDESCO, J.M.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEM, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de solos, Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

TOLRÀ, R.; VOGEL-MIKUS, K.; HAJIBOLAND, R.; KUMP, P.; PONGRAC, P.; KAULICH, B.; GIANONCELLI, A.; BABIN, V.; BARCELÓ, J.; REGVAR, M.; POSCHENRIEDER, C. Localization of aluminium in tea (*Camellia sinensis*) leaves using low energy X-ray fluorescence spectro-microscopy. **Journal of Plant Research**, 124:165-172, 2011.

VÁZQUEZ, M.D.; POSCHENRIEDER, C.; CORRALES, I.; BARCELÓ, J. Change in apoplastic aluminum during the initial growth response to aluminum by roots of a tolerant maize variety. **Plant Physiology**, 119:435-444, 1999.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42:289-292, 2007.

ZHENG, S.J.; YANG, J.L.; HE, Y.F.; YU, X.H.; ZHANG, L.; YOU, J.F.; SHEN, R.F.; MATSUMOTO, H. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat. **Plant Physiology**, 138:297-303, 2005.

APÊNDICE

Tabela A1: Equação de regressão para área foliar (cm<sup>2</sup>/planta) e área foliar específica (cm<sup>2</sup>/g) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
AF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 136,97^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 253,60 + 0,348307^{***}x - 0,000143^{***}x^2$	0,86
	C3	$\hat{y} = \tilde{y} = 441,19^{ns}$	-
AFE	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 121,88^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 133,63 + 0,07347^{***}x - 0,000028^{***}x^2$	0,98
	C3	$\hat{y} = \tilde{y} = 186,88^{ns}$	-

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo.

Tabela A2: Equação de regressão para o teor (g/kg) foliar de N (NF), K (KF) e Mg (MgF), teor no caule de K (KC) e Ca (CaC), teor radicular de K (KR) e Mg (MgR) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate e teor no caule de P (PC) e Mg (MgC) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
NF	C1	$\hat{y} = 31,60 + 0,0021^{***}x$	0,91
	C2	$\hat{y} = 31,15 + 0,001895^{***}x$	0,90
	C3	$\hat{y} = \tilde{y} = 31,40^{ns}$	-
KF	C1	$\hat{y} = 10,6843 - 0,001654^{**}x + 0,000001^{**}x^2$	0,94
	C2	$\hat{y} = 11,4753 + 0,003297^{***}x - 0,000001^{***}x^2$	0,74
	C3	$\hat{y} = 12,16 + 0,000321^{***}x$	0,60
MgF	C1	$\hat{y} = 4,55 - 0,000286^{***}x$	0,56
	C2	$\hat{y} = 4,78 - 0,000895^{***}x + 0,000000469^{***}x^2$	0,72
	C3	$\hat{y} = 5,88 - 0,000322^{***}x$	0,76
KC	C1	$\hat{y} = 8,13 - 0,000911^{*}x + 0,00000038^{ns}x^2$	0,72
	C2	$\hat{y} = 9,41 - 0,001232^{**}x + 0,000001^{**}x^2$	0,82
	C3	$\hat{y} = 9,74 + 0,000974^{*}x - 0,000001^{**}x^2$	0,92
CaC	C1	$\hat{y} = 7,36 - 0,001019^{***}x$	0,92
	C2	$\hat{y} = 7,83 - 0,002361^{***}x + 0,000001^{**}x^2$	0,61
	C3	$\hat{y} = 7,13 - 0,000368^{***}x$	0,89
KR	C1	$\hat{y} = 8,07 + 0,001156^{***}x$	0,75
	C2	$\hat{y} = 7,65 + 0,003817^{***}x - 0,000001^{***}x^2$	0,88
	C3	$\hat{y} = 9,90 + 0,003516^{***}x - 0,000001^{***}x^2$	0,98
MgR	C1	$\hat{y} = 1,76 + 0,000615^{*}x - 0,00000029^{*}x^2$	0,91
	C2	$\hat{y} = 1,88 + 0,005059^{***}x - 0,0000077^{**}x^2 + 0,0000000026^{***}x^3$	0,99
	C3	$\hat{y} = 2,07 - 0,000401^{***}x$	0,64
PC	-	$\hat{y} = 0,87 - 0,000202^{***}x$	0,99
MgC	-	$\hat{y} = 2,04 - 0,000638^{***}x + 0,00000024^{*}x^2$	0,71

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo.



Tabela A3: Teor médio de Mg no caule em clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

Clones	Teor de Mg no caule <sup>1/</sup>
C1	1,50 c
C2	1,79 b
C3	2,21 a

<sup>1/</sup> Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela A4: Equação de regressão para o teor (mg/kg) foliar de Cu (CuF), Zn (ZnF), Fe (FeF), Mn (MnF), teor no caule de Cu (CuC), Zn (ZnC), Fe (FeC) e Mn (MnC) e teor na raiz de Cu (CuR), Zn (ZnR), Fe (FeR) e Mn (MnR) em clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1/</sup>	R <sup>2</sup>
CuF	C1	$\hat{y} = 10,764 + 0,003175***x - 0,000002***x^2$	0,88
	C2	$\hat{y} = 13,51 + 0,001664***x$	0,93
	C3	$\hat{y} = 14,25 - 0,006036***x + 0,0000081***x^2 - 0,00000000254***x^3$	0,88
ZnF	C1	$\hat{y} = \hat{y} = 66,80^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 160,18 + 0,336475***x - 0,000144***x^2$	0,96
	C3	$\hat{y} = 250,23 + 0,106738***x - 0,000049***x^2$	0,89
FeF	C1	$\hat{y} = 72,68 + 0,123685***x - 0,000168***x^2 + 0,0000000542***x^3$	0,94
	C2	$\hat{y} = 70,77 + 0,089236***x - 0,000037***x^2$	0,76
	C3	$\hat{y} = 95,26 + 0,019439***x - 0,000009***x^2$	0,99
MnF	C1	$\hat{y} = 655,00 - 0,079371*x + 0,000033*x^2$	0,77
	C2	$\hat{y} = 752,21 + 1,095294***x - 0,000491***x^2$	0,89
	C3	$\hat{y} = 1145,13 - 0,080749***x$	0,53
CuC	C1	$\hat{y} = 27,91 - 0,013476***x + 0,000003***x^2$	0,83
	C2	$\hat{y} = 28,28 - 0,014872***x + 0,000005***x^2$	0,88
	C3	$\hat{y} = 23,28 - 0,007082***x + 0,000002***x^2$	0,44
ZnC	C1	$\hat{y} = 168,000 - 0,012507***x$	0,51
	C2	$\hat{y} = 177,481 + 0,131700***x - 0,000051***x^2$	0,92
	C3	$\hat{y} = 240,527 + 0,028284***x - 0,000013***x^2$	0,36
FeC	C1	$\hat{y} = 261,98 - 0,049228***x$	0,99
	C2	$\hat{y} = 158,90 - 0,087193***x + 0,000029***x^2$	0,85
	C3	$\hat{y} = 133,22 - 0,102258***x + 0,000041***x^2$	0,64
MnC	C1	$\hat{y} = 192,09 - 0,032691***x$	0,90
	C2	$\hat{y} = 141,11 + 0,070529***x - 0,000027***x^2$	0,78
	C3	$\hat{y} = 199,68 - 0,057644***x + 0,000015***x^2$	0,82
CuR	C1	$\hat{y} = 266,09 - 0,06062***x$	0,77
	C2	$\hat{y} = 180,28 + 0,285300***x - 0,000158***x^2$	0,99
	C3	$\hat{y} = 217,33 - 0,039554***x$	0,81
ZnR	C1	$\hat{y} = 201,55 + 0,020024***x - 0,000019***x^2$	0,61
	C2	$\hat{y} = 218,54 + 0,273515***x - 0,000172***x^2$	0,90
	C3	$\hat{y} = 370,87 - 0,074859***x$	0,54
FeR	C1	$\hat{y} = 1020,54 + 0,282253***x - 0,000208***x^2$	0,55
	C2	$\hat{y} = 862,95 + 0,325233***x - 0,000249***x^2$	0,76
	C3	$\hat{y} = 793,24 + 0,488327***x - 0,000296***x^2$	0,81
MnR	C1	$\hat{y} = 94,28 + 0,057791***x - 0,000018***x^2$	0,91
	C2	$\hat{y} = 127,75 + 0,091520***x - 0,000036***x^2$	0,78
	C3	$\hat{y} = 225,19 + 0,050147***x - 0,000040***x^2$	0,51

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo.

Tabela A5: Equação de regressão para o conteúdo foliar de N (CNF), K (CKF), Mg (CMgF), Cu (CCuF), Zn (CZnF), Fe (CFeF) e Mn (CMnF) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al em solução nutritiva

Variável	Clone	Equação de regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
CNF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 37,40^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 60,33+0,07898***x-0,000014***x^2$	0,55
	C3	$\hat{y} = 72,41+0,043565**x-0,000062**x^2+0,0000000199*x^3$	0,66
CKF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 11,62^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 22,17+0,021437***x-0,000009***x^2$	0,61
	C3	$\hat{y} = \tilde{y} = 29,27^{ns}$	-
CMgF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 4,92^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 8,49+0,015147***x-0,000020***x^2+0,00000000655***x^3$	0,52
	C3	$\hat{y} = 14,16-0,001105***x$	0,53
CCuF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 12,47^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 25,75+0,021668***x-0,000008***x^2$	0,66
	C3	$\hat{y} = \tilde{y} = 32,58^{ns}$	-
CZnF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 75,47^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 306,58+1,024330***x-0,000433***x^2$	0,94
	C3	$\hat{y} = 599,07+0,268377***x-0,000132***x^2$	0,63
CFeF	C1	$\hat{y} = 76,60+0,205497***x-0,000279***x^2+0,00000009***x^3$	0,97
	C2	$\hat{y} = 129,75+0,317897***x-0,000135***x^2$	0,93
	C3	$\hat{y} = 227,04+0,054047***x-0,000028***x^2$	0,60
CMnF	C1	$\hat{y} = \tilde{y} = 714,96^{ns}$	-
	C2	$\hat{y} = 1487,19+3,503577***x-0,001571***x^2$	0,81
	C3	$\hat{y} = 2562,58+2,11113***x-0,003292***x^2+0,000001***x^3$	0,64

<sup>1/</sup>\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo.

**CAPÍTULO 2**  
**ALUMÍNIO ESTIMULA O CRESCIMENTO RADICULAR DE ERVA-MATE**

## INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, a folha é o órgão utilizado na avaliação do estado nutricional das plantas, o qual, dentre outros fatores, depende da atividade da raiz. Estudos sobre o sistema radicular de plantas são relativamente escassos devido ao hábito de crescimento das raízes. Para a erva-mate, que se desenvolve naturalmente em solos com altos teores de Al, o comportamento das raízes merece atenção especial.

Normalmente, o Al é tóxico para as plantas (Foy et al., 1978), sendo a inibição do crescimento da raiz um dos principais sintomas visíveis de sua toxicidade (Cambraia et al., 1991; Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995; Kochian, 1995; Jan e Pettersson, 1995; Degenhardt et al., 1998). O Al interfere na divisão celular das raízes, deixando-as curtas, grossas e quebradiças, com ausência de ramificações finas. Essas alterações reduzem a produção de matéria seca, o número e o comprimento de raízes, frequentemente associados ao aumento do raio médio e do volume radicular (Foy et al., 1978; Sivaguru e Paliwal, 1993; Baligar et al., 1995; Kochian, 1995).

Mesmo sendo a inibição do crescimento da raiz o sintoma primário da toxicidade de Al, os mecanismos envolvidos ainda não foram totalmente elucidados, havendo controvérsias quanto ao local em que o Al atua para desencadear a toxicidade. A parte compreendida entre a região meristemática e de alongação das raízes parece ser a mais sensível à ação do Al (Sivaguru e Horst, 1998), que altera as propriedades da parede celular e da plasmalema (Ryan et al., 1993; Kochian, 1995), provocando a inibição da mitose nas células do meristema apical da raiz (Matsumoto et al., 1976). No entanto, há indícios de que o efeito tóxico do Al ocorre antes mesmo de penetrar nas células das raízes, devido ao fato de que a maior parte do Al associado às células parece estar localizada no apoplasto (Stab e Horst, 1995). Assim, é provável que os efeitos do Al sejam derivados principalmente da associação externa do Al com células da raiz (Yamamoto et al., 2003).

O crescimento radicular tem sido amplamente utilizado como indicador de tolerância ao Al (Alves et al., 2004), sendo o comprimento o mais sensível (Massot et al., 1992; Baligar et al., 1993). A inibição do crescimento radicular é uma das características que podem variar entre espécies tolerantes e sensíveis, em diferentes graus (Kochian, 1995). Em café, as características radiculares foram as mais afetadas pela toxidez do Al, sendo observada a inibição do crescimento, com anormalidades morfológicas típicas, o que permitiu discriminar genótipos de café quanto à tolerância ao Al (Braccini et al., 1998).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de raízes de clones de erva-mate submetidas a doses crescentes de Al.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido em casa de vegetação com mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), com aproximadamente quatro meses de idade, cultivadas em sistema hidropônico. Foram utilizados três clones: clone 1 (C1), procedente de São Mateus do Sul - PR, e os clones 2 (C2) e 3 (C3) procedentes de Bocaiúva do Sul- PR, sendo as mudas produzidas por miniestaquia.

No momento da transferência das mudas do substrato para solução nutritiva, suas raízes foram lavadas em água deionizada. A solução nutritiva utilizada foi a de Wendling et al. (2007) modificada. A concentração dos macronutrientes (mmol/L) e dos micronutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ ), e as respectivas fontes utilizadas foram: N = 8,86 ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); P = 0,48 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ); K = 3,58 (KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ); Ca = 3,00 ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); Mg = 1,36 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); S = 1,87 ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ); B = 46,30 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); Cu = 7,87 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); Mn = 36,43 ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); Zn = 15,30 ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); Fe = 90,00 ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e Mo = 0,73 ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Esta solução foi utilizada com metade da força iônica.

As mudas foram mantidas na solução nutritiva durante 30 dias para aclimação. Após este período adicionaram-se as doses de 0, 100, 500, 1000 e 2000  $\mu\text{mol/L}$  de Al, na forma de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

O pH das soluções foi ajustado para 4,2 ( $\pm 0,2$ ) a cada 2 dias com HCl 0,1 mol/L ou NaOH 0,1 mol/L. As soluções foram mantidas sob arejamento constante e substituídas a cada 10 dias.

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial (3x5), com três clones e cinco doses de Al, dispostos com quatro repetições no delineamento blocos casualizados. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3 L de solução contendo três plantas do mesmo clone.

Após serem submetidas aos tratamentos por 50 dias, as plantas foram separadas em folha, caule e raiz. Determinou-se a área foliar (AF), o comprimento do sistema radicular total (CRT) e o volume do sistema radicular total (VRT), sendo o volume das raízes dividido em volume total de raízes ativas (VTRA) e inativas (VTRI). O comprimento total e o volume total das raízes ativas foram determinados para os diâmetros de 0,00-0,50; 0,51-1,00; 1,01-2,00; 2,01-3,00; 3,01- 4,00 e maiores de 4,01

mm. Essas determinações foram realizadas utilizando-se um scanner acoplado a computador contendo o software WinRhizo, modelo LA 2400 versão 2009. As raízes ativas correspondem às raízes vivas com coloração esbranquiçada, já as inativas, são as mortas e escurecidas. Posteriormente, o material foi seco em estufa a 65 °C, para determinação da matéria seca da folha (MSF), do caule (MSC), da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST).

Calcularam-se o comprimento radicular específico (CRE), o volume radicular específico (VRE) e as relações entre volume total e volume de raízes ativas (VRT/VTRA), volume total e volume de raízes inativas (VRT/VTRI) e volume de raízes ativas e inativas (VTRA/VTRI). O CRE (m/g) foi calculado pela razão entre CRT e a MSR e o VRE (cm<sup>3</sup>/g) pela razão entre VRT e MSR.

Após análise da variância, as características foram analisadas por meio de regressão, utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2008). As correlações foram calculadas utilizando-se o software Statistica 7. Para todas as análises considerou-se o nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De maneira geral, o Al influenciou positivamente o crescimento das raízes de todos os clones (Figuras 1, 2 e 3). O maior comprimento radicular (CRT) (Figura 1A) foi apresentado pelo clone C2 (20,4 m/planta), seguido do clone C3 (18,6 m/planta) e do clone C1 (13,2 m/planta) em doses superiores a 1500  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Em relação ao volume radicular (VRT) (Figura 1B), os maiores valores (20,7, 17,3 e 12,4 cm<sup>3</sup>/planta), respectivamente, para os clones C3, C2 e C1, foram obtidos nas doses de 2000, 1355 e 1988  $\mu\text{mol/L}$  de Al, tendo o C3, VRT mínimo de 8,9 cm<sup>3</sup>/planta na dose de 471  $\mu\text{mol/L}$  de Al. A máxima produção de MSR (0,33, 0,37 e 0,33 g/planta) ocorreu nas doses de 1259, 1295 e 1303  $\mu\text{mol/L}$  de Al, respectivamente, para os clones C1, C2 e C3 (Figura 1C). O máximo CRE ocorreu na maior dose de Al para os clones C2 e C3 (Figura 1D); o mesmo foi observado para o VRE para os clones C1 e C3, enquanto que para o clone C2 o VRE máximo foi obtido com a dose de 1388  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1E).

O comprimento radicular é considerado característica padrão para a determinação da densidade e do crescimento radicular (Rossiello et al., 1995), sendo normalmente inibido após 0,5-2 h de exposição ao excesso de Al (Barceló e Poschenrieder, 2002). No entanto, os maiores comprimentos das raízes, para todos os clones, foram observados em doses acima de 1500  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1A), mesmo após 50 dias de exposição,

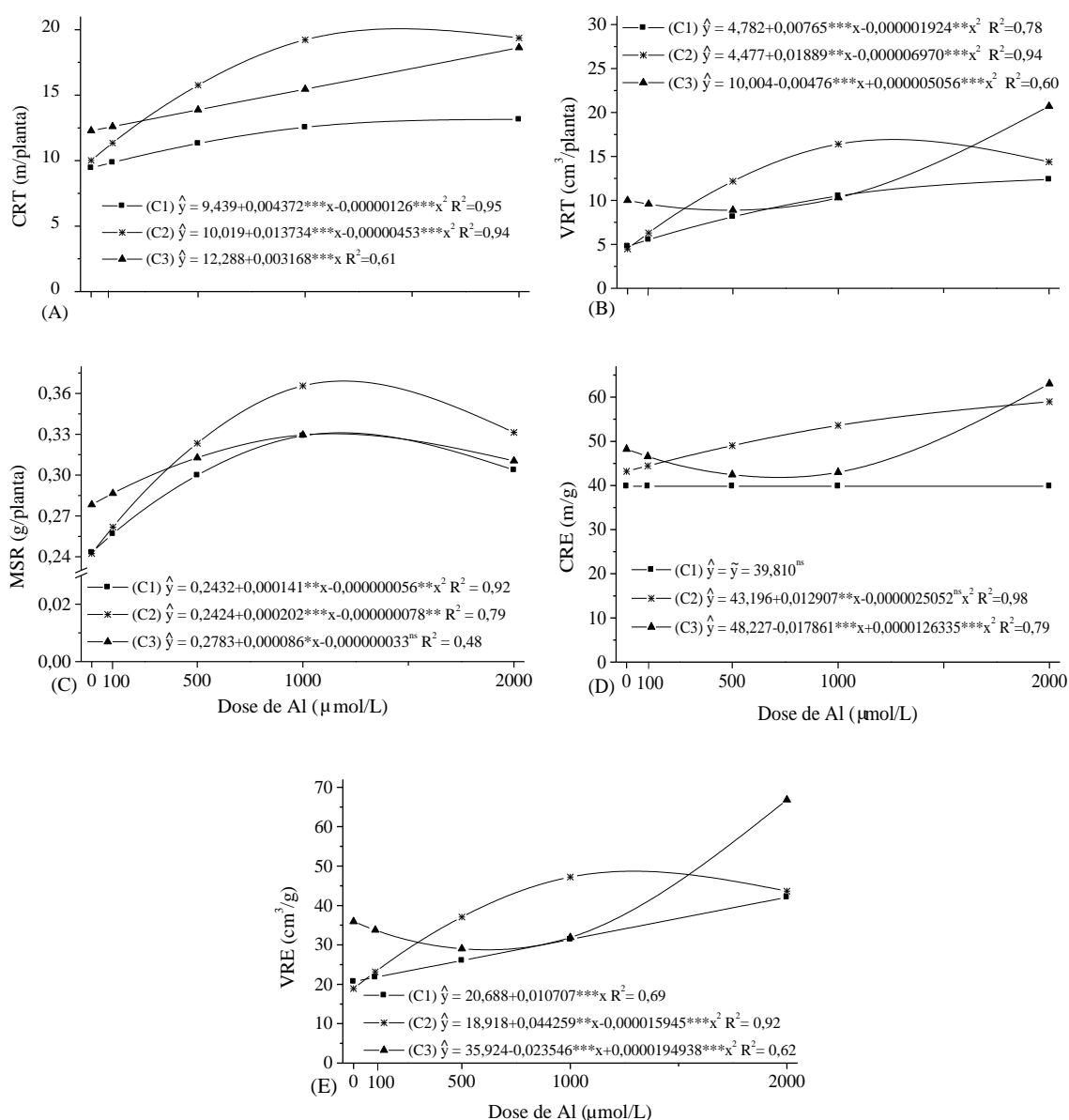
sendo os valores semelhantes aos 13,7 m/planta, observados por Bastos et al. (2008) em mudas de erva-mate com alto teor de Al no solo ( $4,5 \text{ cmol/dm}^3$ ). Assim, o Al pode favorecer o crescimento radicular da espécie, a exemplo do observado em eucalipto, para o qual a diminuição no alongamento radicular ocorreu quando o teor de Al na solução era de  $648 \text{ } \mu\text{M}$  (Silva et al., 2004). Em espécie tolerante ao Al (*Melaleuca cajuputi*), o cultivo em solução com  $2,5 \text{ mmol}$  do elemento não prejudicou o alongamento da raiz (Tahara et al., 2008a); já em espécie sensível (*Melaleuca bracteata*), após 3 h de exposição ao Al, ocorreu inibição do alongamento da raiz, o que não foi observado na espécie tolerante (*M. cajuputi*) (Tahara et al., 2008b). O aumento no comprimento de raízes em função das doses de Al para os três clones estudados indica que a erva-mate, além de ser beneficiada pela presença do Al, demonstra boa tolerância ao elemento.

A reação dos clones C1 e C2 ao Al foi semelhante para o CRT e VRT. Maiores VRT foram obtidos respectivamente nas doses de  $1988$  e  $1355 \text{ } \mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1B), não muito distantes das doses de  $1735$  e  $1516 \text{ } \mu\text{mol/L}$  de Al, nas quais foi observado o maior CRT (Figura 1A). Já o clone C3 apresentou aumento mais pronunciado do VRT entre as doses de  $1000$  e  $2000 \text{ } \mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1B) em relação ao CRT (Figura 1A), o que pode ser indício de que há um engrossamento da raiz nas maiores doses de Al para esse clone, sintoma típico de toxidez por Al (Foy et al., 1978; Baligar et al., 1995; Kochian, 1995). Os resultados aqui apresentados demonstram que maiores volumes foram consequência de altas doses de Al. No entanto, a medida do volume isoladamente não esclarece se este é consequência de raízes grossas (menos eficientes) ou de muitas raízes finas (mais eficientes), devendo-se ter cautela na análise dessa variável isoladamente. Alguns autores consideram que, a avaliação do comprimento radicular reflete melhor o efeito do Al (Massot et al., 1992; Baligar et al., 1993).

Considerando a MSR, o clone C2 apresentou maior ganho na produção de raízes, sendo que os três clones se comportaram de maneira semelhante, com maior produção de raiz nas doses entre  $1259$  e  $1303 \text{ } \mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 1C). Concentrações superiores as toleradas por espécies como *Moringa oleífera* e *Anandenantha peregrina* que tiveram a produção de matéria seca da raiz restringida a partir da dose de Al equivalente a  $93 \text{ } \mu\text{mol/L}$  (Beutler et al., 2001).

A partir do CRE (Figura 1D) e VRE (Figura 1E) observa-se maior eficiência no uso dos recursos de crescimento nas doses entre  $1388$  e  $2000 \text{ } \mu\text{mol/L}$  de Al.

A inibição do crescimento das raízes é o primeiro sintoma visível de toxidez por Al (Cambráia et al., 1991; Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995; Kochian, 1995; Jan e Pettersson, 1995; Degenhardt et al., 1998), mas seu efeito no alívio da toxicidade do H<sup>+</sup> em pH baixo pode ser benéfico, em especial ao crescimento radicular (Kinraide, 1991). Nesse estudo, as avaliações realizadas indicam benefícios ao crescimento radicular em doses acima de 1259 μmol/L de Al e, os efeitos negativos, quando ocorreram, foram observados na ausência ou na maior dose de Al (Figuras 1A, 1B e 1C).



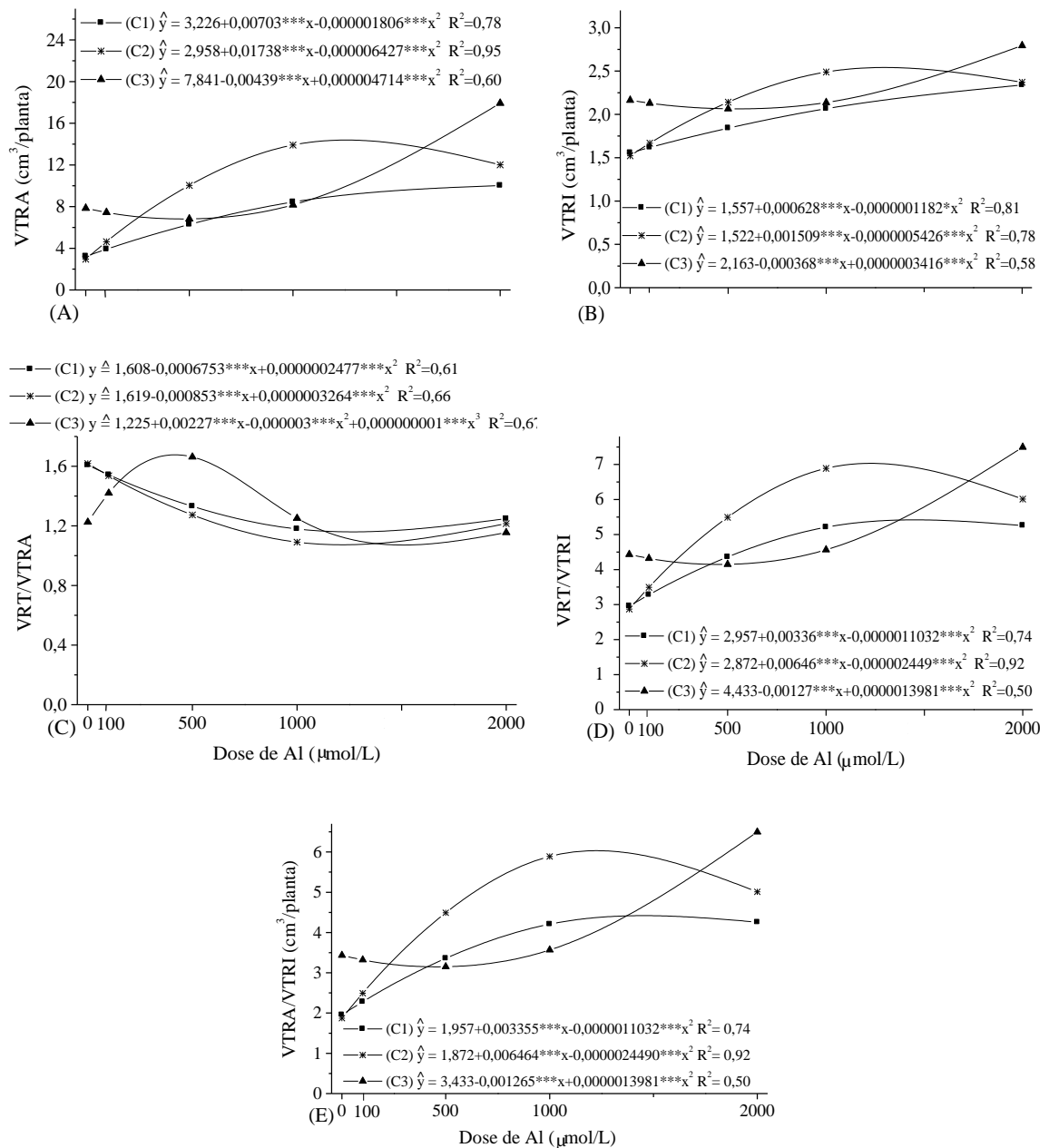
**Figura 1:** Comprimento total (CRT) (A); volume total (VRT) (B); matéria seca de raiz (MSR) (C); comprimento específico (CRE) (D) e volume específico da raiz (VRE) (E) de clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al. <sup>ns</sup>, <sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup> e <sup>\*\*\*</sup>, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.



Os clones não diferiram entre si quanto ao VTRA e VTRI (Figuras 2A e B). Os maiores VTRA foram de 10,1, 14,7 e 17,9 cm<sup>3</sup>/planta para os clones C1, C2 e C3, respectivamente, nas doses de 1946, 1352 e 2000 µmol/L de Al. O VTRI foi menor que o VTRA para todos os clones e tratamentos, sendo o máximo valor de 2,3, 2,6 e 2,8 cm<sup>3</sup>/planta, observado respectivamente para os clones C1, C2 e C3 nas doses de 2000, 1390 e 2000 (Figura 2B). Isso provavelmente seja devido à substituição das raízes mortas (inativas) por novas (ativas), demonstrando estado nutricional (dados não apresentados) suficiente para investir na renovação do sistema radicular.

Quanto à relação entre VRT/VTRA (Figura 2C) e VRT/VTRI (Figura 2D), observou-se comportamento diferenciado entre clones. Para os clones C1 e C2, menor relação VRT/VTRA ocorreu em doses próximas à maior relação VRT/VTRI, respectivamente, nas doses de 1363 e 1520 µmol/L de Al para o clone C1 e 1307 e 1320 µmol/L de Al para o clone C2. O clone C3 apresentou resposta diferente daquela obtida para os clones C1 e C2 no que tange a relação VRT/VTRA e VRT/VTRI (Figuras 2C e D). Os maiores VRT em relação ao VTRI foram observados nas doses de 1520, 1320 e 2000 µmol/L respectivamente para os clones C1, C2 e C3 (Figura 2E).

As relações VRT/VTRA e VRT/VTRI podem servir como indicativo de qualidade das raízes. Observou-se que os clones C1 e C2 apresentaram maior relação VRT/VTRA na testemunha e maior VRT/VTRI nas doses de 1520 e 1320 µmol/L de Al, respectivamente (Figura 2C e D), indicando que sem Al a substituição das raízes inativas por ativas ocorre em menor proporção. Este fato é fortalecido pela maior relação VTRA/VTRI que ocorreu em doses acima de 1320 µmol/L de Al para todos os clones (Figura 2E) e pela alta correlação entre VRT e CRT com VTRA e VTRI (Tabela 1).



**Figura 2:** Volume total de raiz ativa (VTRA) (A); volume total de raiz inativa (VTRI) (B), relação entre volume total e volume de raiz ativa (VRT/VTRA) (C); relação entre volume total e volume de raiz inativa (VRT/VTRI) (D) e relação entre volume de raiz ativa e inativa (VTRA/VTRI) (E) em clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al. ns, \*, \*\* e \*\*\*, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.

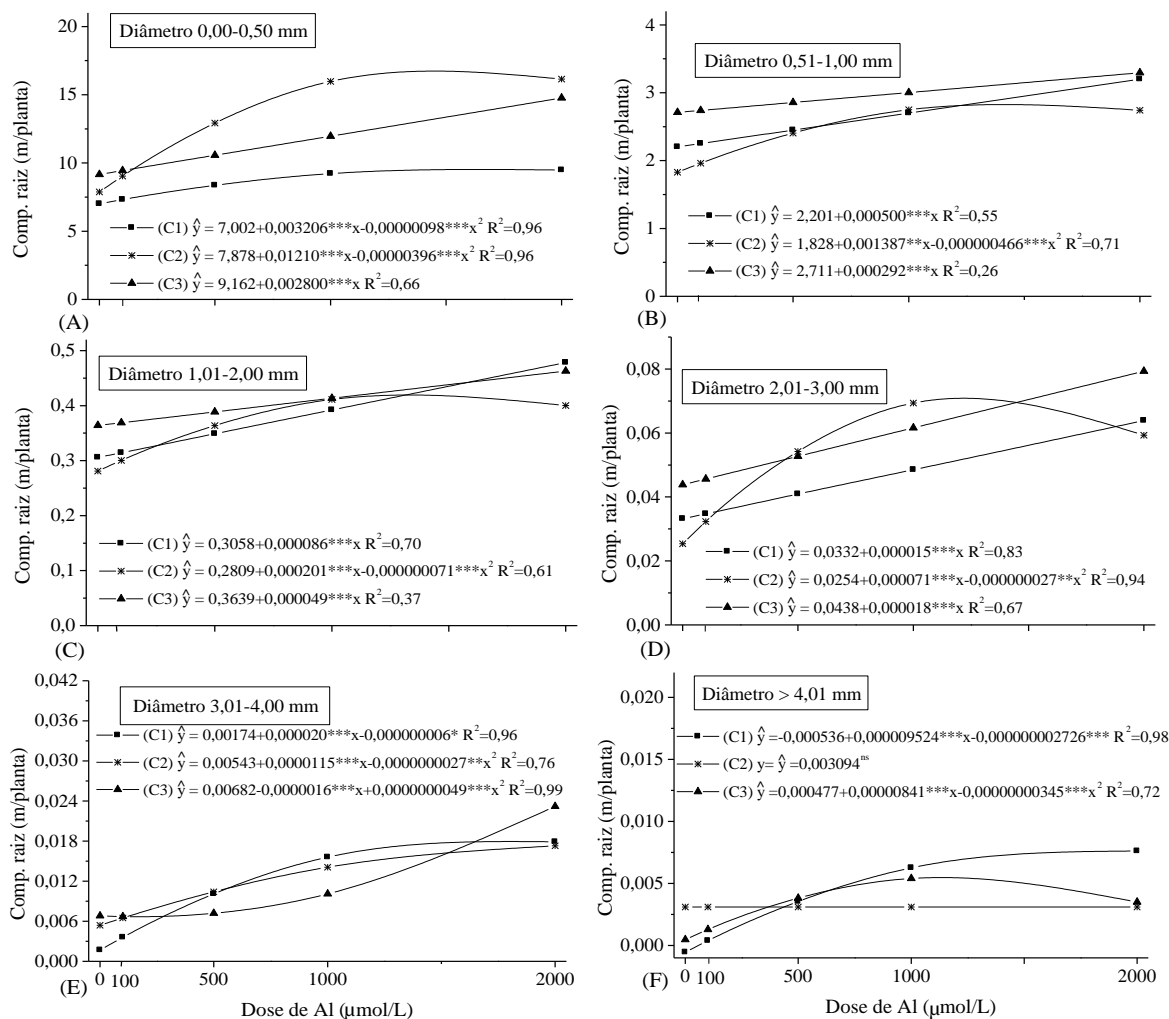
Raízes mais finas, com diâmetros entre 0,00-1,00 mm, apresentaram os maiores comprimentos (Figuras 3A e B). Nesta classe de raízes o maior comprimento foi observado no clone C2 (1528 µmol/L de Al), seguido pelos clones C3 (2000 µmol/L de Al) e C1 (1636 µmol/L de Al) (Figura 3A). As raízes com diâmetro entre 0,51-1,00 apresentaram maior comprimento nas doses de 2000, 1488 e 2000 µmol/L de Al, respectivamente, para os clones C1, C2 e C3 (Figura 3B).

Tabela 1: Coeficientes de correlação linear simples entre comprimento total (CRT), volume total (VRT), matéria seca da raiz (MSR), volume total de raiz ativa (VTRA), volume total de raiz inativa (VTRI), volume de raiz com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (V-0,50), 0,51-1,00 mm (V-1,00), e maior de 4,01 mm (V>4,01), comprimento de raiz com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (C-0,50), 0,51-1,00 mm (C-1,00), e maior de 4,01 mm (C >4,01)

Variável	CLONE	VRT	MSR	VTRA	VTRI	V-0,50	V-1,00	V>4,10	C-0,50	C-1,00	C>4,10
CRT	C1	0,86***	0,71***	0,86***	0,87***	0,95***	0,84***	0,81***	0,96***	0,84***	0,88***
	C2	0,96***	0,84***	0,96***	0,92***	0,94***	0,63**	0,72***	0,99***	0,88***	0,55*
	C3	0,92***	0,41 <sup>ns</sup>	0,93***	0,90***	0,87***	0,78***	0,53*	0,99***	0,80***	0,43 <sup>ns</sup>
VRT	C1	-	0,65**	0,99***	0,98***	0,81***	0,99***	0,71***	0,73***	0,88***	0,81***
	C2	-	0,79***	0,99***	0,96***	0,92***	0,76***	0,70***	0,96***	0,82***	0,56*
	C3	-	0,24 <sup>ns</sup>	0,99***	0,99***	0,87***	0,90***	0,51*	0,91***	0,77***	0,44 <sup>ns</sup>
MSR	C1	-	-	0,63**	0,64**	0,67***	0,64**	0,56*	0,70***	0,56**	0,66***
	C2	-	-	0,79***	0,79***	0,67***	0,68***	0,67***	0,82***	0,82***	0,55*
	C3	-	-	0,24 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>	0,45*	0,46*
VTRA	C1	-	-	-	0,97***	0,80***	0,99***	0,70***	0,73***	0,87***	0,81***
	C2	-	-	-	0,96***	0,92***	0,76***	0,69***	0,96***	0,81***	0,55*
	C3	-	-	-	0,99***	0,87***	0,90***	0,51*	0,91***	0,77***	0,44 <sup>ns</sup>
VTRI	C1	-	-	-	-	0,84***	0,97***	0,72***	0,74***	0,88***	0,80***
	C2	-	-	-	-	0,87***	0,74***	0,66**	0,91***	0,83***	0,65**
	C3	-	-	-	-	0,86***	0,90***	0,46*	0,88***	0,78***	0,41 <sup>ns</sup>
V-0,50	C1	-	-	-	-	-	0,78***	0,83***	0,92***	0,78***	0,87***
	C2	-	-	-	-	-	0,46***	0,66**	0,96***	0,75***	0,43 <sup>ns</sup>
	C3	-	-	-	-	-	0,58**	0,52*	0,89***	0,57**	0,28 <sup>ns</sup>
V-1,00	C1	-	-	-	-	-	-	0,67***	0,71***	0,87***	0,79***
	C2	-	-	-	-	-	-	0,44 <sup>ns</sup>	0,62***	0,60***	0,49*
	C3	-	-	-	-	-	-	0,38 <sup>ns</sup>	0,73***	0,79***	0,48*
V>4,10	C1	-	-	-	-	-	-	-	0,83***	0,56**	0,93***
	C2	-	-	-	-	-	-	-	0,70***	0,74***	0,78***
	C3	-	-	-	-	-	-	-	0,54*	0,73 <sup>ns</sup>	0,91***
C-0,50	C1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,66***	0,89***
	C2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,85***	0,53*
	C3	-	-	-	-	-	-	-	-	0,72***	0,41 <sup>ns</sup>
C-1,00	C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,64***
	C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,56**
	C3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,41 <sup>ns</sup>

\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1 % e <sup>ns</sup> não significativo a 5 %.

Raízes com diâmetros entre 1,01-2,00 e de 2,01-3,00 mm apresentaram maior comprimento na maior dose de Al, para os clones C1 e C3 (Figura 3C e D), e o clone C2 apresentou o máximo comprimento de raiz respectivamente nas doses de 1415 e de 1317  $\mu\text{mol/L}$  de Al. Já em raízes com diâmetro entre 3,01-4,00 mm, maior comprimento foi observado nas doses de 1667, para o clone C1, e de 2000  $\mu\text{mol/L}$  de Al para os clones C2 e C3 (Figura 3E). Nas raízes mais grossas do clone C2, os tratamentos não influenciaram o comprimento radicular. O C1 apresentou maior comprimento na dose de 1747  $\mu\text{mol/L}$  de Al, dose superior aos 1219  $\mu\text{mol/L}$  de Al necessário para o clone C3 (Figura 3F).



**Figura 3:** Comprimento de raízes com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (A); 0,51- 1,00 mm (B); 1,01- 2,00 mm (C); 2,01-3,00 mm (D); 3,01-4,00 (E) e acima de 4,01 mm (F) de clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al. <sup>ns</sup>, \*, \*\*, e \*\*\*, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.

O clone C2 possui maior extensão de raízes com menor diâmetro (Figura 3A), o que pode ter favorecido o maior crescimento da parte aérea (ver capítulo 1), tendo em vista serem as raízes finas as mais eficientes na absorção de água e nutrientes da solução (Zonta et al., 2006).

De maneira geral, maiores comprimentos radiculares, independentemente da espessura da raiz, foram observados em doses acima de 1219 μmol/L de Al para todos os clones, demonstrando o efeito benéfico do Al no comprimento de raízes de erva-mate.

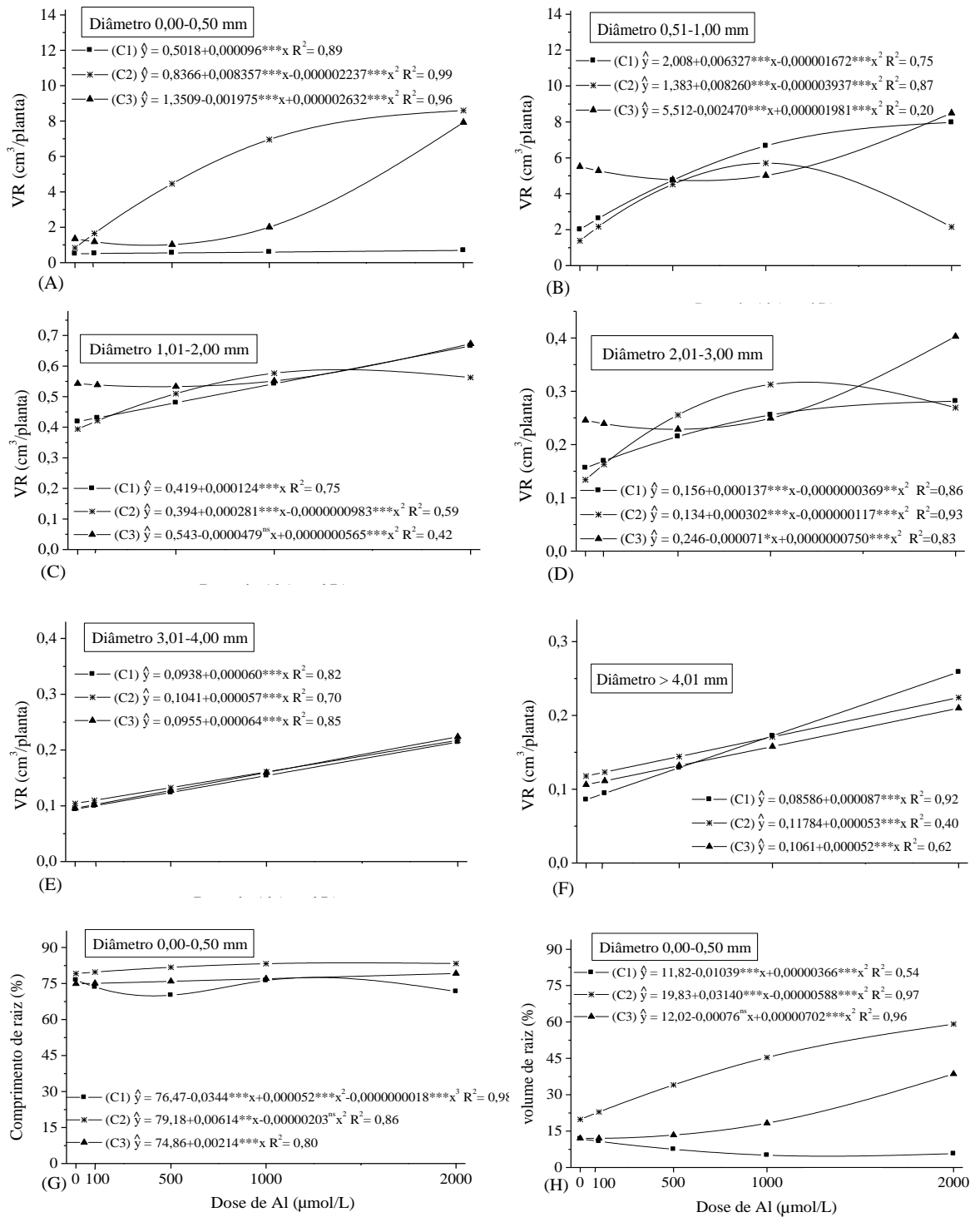
Assim como para o comprimento, maior volume foi obtido em raízes de menor diâmetro (Figura 4). Entre os diâmetros de 0,00-0,50 mm observou-se aumento expressivo no VR da testemunha para as maiores doses de Al, especialmente para os clones C2 e C3. Maior VR foi observado no clone C2 (1868 μmol/L de Al), seguido

pelos clones C3 e C1 ambos na dose de 2000  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 4A). Maiores volumes de raízes com diâmetro entre 0,51-1,00 mm foram observados para os clones C3, C1 e C2 em doses acima de 1049  $\mu\text{mol/L}$  de Al (Figura 4B).

Apesar do aumento do VR ter sido menos pronunciado para os intervalos de diâmetro de raiz com maior espessura, dentro de cada clone, a dose de maximização de crescimento foi semelhante. É importante salientar que nos intervalos de diâmetro de 0,00-0,50; 0,51-1,00; 1,01-2,00 e 2,01-3,00 mm (Figuras 4A, B, C e D), enquanto o clone C1 respondeu positivamente às doses de Al, o clone C2 foi influenciado negativamente em doses acima de 1000  $\mu\text{mol/L}$  de Al, e o clone C3 foi prejudicado em doses menores de 623  $\mu\text{mol/L}$ . Outro fato que chama a atenção é que raízes com maiores diâmetros responderam linearmente ao Al, o que não ocorre com raízes mais finas.

O crescimento em comprimento de raízes finas (diâmetro entre 0,00-0,50 mm) foi mais acentuado, em especial o do clone C2 (Figura 4G). A maior percentagem do volume de raízes finas foi observada na maior dose de Al para todos os clones, com maior proporção para o clone C2 (Figura 4H).

De modo geral, o comprimento de raízes finas (principalmente entre diâmetro de 0,51-1,00 e 1,01-2,00 mm) foi mais afetado pelo Al em todos os clones (Figura 3B e C), sendo as raízes grossas as menos afetadas (Figura 3F). Nas raízes mais finas, o clone C2 apresentou maior incremento no crescimento em extensão (da dose 0 até a dose de máximo comprimento radicular), indício de que os mecanismos de tolerância nesse clone estavam mais ativos. O clone C2 também apresentou maior incremento em volume nas raízes de menor diâmetro em relação aos demais clones (Figura 4A). Comparando o efeito de alta atividade de Al nas raízes grossas e finas de *Eucalyptus grandis* e *E. globulus*, Silva et al. (2004) observaram que as raízes grossas de *E. grandis* foram mais sensíveis à toxicidade do Al que as de *E. globulus*; já as raízes finas de ambas as espécies foram mais sensíveis em relação às grossas.



**Figura 4:** Volume de raízes ativas com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (A); 0,51-1,00 mm (B); 1,01-2,00 mm (C); 2,01-3,00 mm (D); 3,01-4,00 (E) e acima de 4,01 mm (F); percentagem do comprimento (G) e volume (H) de raízes com diâmetro entre 0,00 e 0,50 mm em relação ao total de clones (C1, C2 e C3) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) submetidos a doses de Al. ns, \*, \*\* e \*\*\*, respectivamente não significativo a 5 %, significativo a 5, 1 e 0,1 %.

Neste estudo, aparentemente, as raízes grossas do clone C2 foram as mais sensíveis ao Al, o que não prejudicou o crescimento das plantas como um todo (Tabela 2). Já o clone C3 sofreu maior prejuízo ao comprimento de raízes mais finas (Figura 3A), indicando que o crescimento da planta será mais prejudicado quando a toxicidade ocorreu em raízes mais finas (Tabela 2). O efeito prejudicial do Al no comprimento das raízes do clone C1 também foi mais pronunciado sobre as raízes mais finas, porém em menor proporção que no clone C3 (Figura 3A). Estes resultados comprovam que os efeitos negativos na planta são mais pronunciados quando a toxicidade do Al ocorre nas raízes finas, indicando que o mecanismo de tolerância do clone C2 ao Al pode estar relacionado à manutenção das raízes finas.

Tabela 2: Coeficientes de correlação linear simples entre variáveis de crescimento de parte aérea: área foliar (AF), matéria seca da folha (MSF), do caule (MSC), da parte aérea (MSPA) e total (MST); e comprimento total de raiz, (CT), volume total de raiz (VT), matéria seca da raiz (MSR), volume total de raiz ativa (VTA), volume total de raiz inativa (VTRI), volume de raiz com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (V-0,50), 0,51-1,00 mm (V-1,00), e maior de 4,01 mm (V>4,01), comprimento de raiz com diâmetro entre 0,00-0,50 mm (C-0,50), 0,51-1,00 mm (C-1,00), e maior de 4,01 mm (C >4,01)

Variável	CLONE	CT	VT	MSR	VTA	VTI	V-0,50	V-1,00	V>4,10	C-0,50	C-1,00	C>4,10
AF	C1	0,66**	0,72**	0,21 <sup>ns</sup>	0,71**	0,71**	0,68**	0,71**	0,55*	0,51*	0,75**	0,54*
	C2	0,88**	0,91**	0,84**	0,91**	0,89**	0,75**	0,83**	0,68**	0,86**	0,84**	0,55*
	C3	0,18 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	-0,42 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	0,46 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
MSF	C1	0,16 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	0,69 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	-0,12 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>
	C2	0,72**	0,74**	0,81**	0,74**	0,80**	0,53*	0,79**	0,73**	0,71**	0,73**	0,52*
	C3	-0,04 <sup>ns</sup>	-0,09 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	-0,09 <sup>ns</sup>	-0,06 <sup>ns</sup>	-0,20 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	-0,03 <sup>ns</sup>	-0,04 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
MSC	C1	0,62**	0,51*	0,58**	0,51*	0,51*	0,64**	0,49*	0,62**	0,57**	0,59**	0,64**
	C2	0,64**	0,60**	0,75**	0,60**	0,61**	0,41 <sup>ns</sup>	0,69**	0,44 <sup>ns</sup>	0,61**	0,70**	0,44 <sup>ns</sup>
	C3	-0,20 <sup>ns</sup>	-0,34 <sup>ns</sup>	0,54*	-0,34 <sup>ns</sup>	-0,36 <sup>ns</sup>	-0,49 <sup>ns</sup>	-0,14 <sup>ns</sup>	-0,09 <sup>ns</sup>	-0,21 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>
MSPA	C1	0,63**	0,65**	0,54*	0,59**	0,54*	0,62**	0,58**	0,48*	0,54*	0,65**	0,61**
	C2	0,73**	0,74**	0,83**	0,73**	0,78**	0,52*	0,80**	0,68**	0,71**	0,76**	0,52*
	C3	-0,12 <sup>ns</sup>	-0,22 <sup>ns</sup>	0,53*	-0,22 <sup>ns</sup>	-0,21 <sup>ns</sup>	-0,37 <sup>ns</sup>	-0,05 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	-0,03 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>
MST	C1	0,69**	0,64**	0,67**	0,64**	0,60**	0,67**	0,63**	0,53*	0,61**	0,68**	0,65**
	C2	0,76**	0,76**	0,87**	0,76**	0,79**	0,55*	0,80**	0,69**	0,74**	0,78**	0,53*
	C3	-0,53 <sup>ns</sup>	-0,17 <sup>ns</sup>	0,63**	-0,17 <sup>ns</sup>	-0,16 <sup>ns</sup>	-0,31 <sup>ns</sup>	-0,01 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	-0,06 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>

\*, \*\*, \*\*\* significativo a 5; 1; 0,1% e <sup>ns</sup> não significativo a 5 %.

Em vista disso, mesmo que o maior comprimento de raízes finas tenha ocorrido na maior dose de Al para o clone C3 (Figura 3A e 3B), o incremento da elongação radicular a partir da testemunha até a dose de máximo comprimento foi menor que dos demais clones. Esse comportamento, aliado às correlações não significativas entre as variáveis de raiz e parte aérea (Tabela 2) indicam que o crescimento das raízes não refletiu no crescimento da parte aérea.

## **CONCLUSÕES**

O alumínio estimula o crescimento radicular da erva-mate.

O crescimento radicular, em especial o comprimento e a matéria seca das raízes, são bons indicadores da tolerância da erva-mate ao Al.

Os clones de erva-mate testados apresentam tolerância diferencial ao Al.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V.M.C.; PITTA, G.V.E.; PARENTONI, S.N.; SCHAFFERT, R.E.; COELHO, A.M.; MAGALHÃES, J.V. de. Toxidez por alumínio e hidrogênio no crescimento de raízes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 3:311-318, 2004.

BALIGAR, V.C., ANGHINONI, I., PITTA, G.V.E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, 18:2325-2338, 1995.

BALIGAR, V.C.; SCHAFFERT, R.E.; SANTOS, H.L.; PITTA, G.V.E.; BAHIA FILHO, A.F. C. Soil aluminium effects on uptake, influx, and transport of nutrients in sorghum genotypes. **Plant and Soil**, 150:271-277, 1993.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: A review. **Environmental and Experimental Botany**, 48:75-92, 2002.

BASTOS, M.C.; REISSMANN, C.B.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; KASEKER, J.F.; BRONDANI, G.E. Alumínio: tóxico ou benéfico para araucária e erva-mate? In: FERBIO, 2008. **Anais...** Londrina, 2008.

BEUTLER, N.; FERNANDES, L.A.; FAQUIN, V. Efeito do alumínio sobre o crescimento de duas espécies florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:923-928, 2001.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; SAMPAIO, N.F.; PEREIRA, A.A. Tolerância de genótipos de cafeeiro ao alumínio em solução nutritiva. II. Teores de P, Ca e Al e eficiência ao P e Ca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 22:443-450, 1998.

CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A.O.; SANT'ANNA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 3:87-95, 1991.

DEGENHARDT, J.; LARSEN, P.B.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant alr-104 is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. **Plant Physiology**, 117:19-27, 1998.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, 6:36-41, 2008.

FOY, C.D.; CHANEL, R.L.; WRITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review Plant Physiology**, 29:511-566, 1978.

FRÁGUAS, J.C. Efeito do alumínio no comprimento de raízes e na absorção de fósforo e cálcio em porta enxertos de videira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 17:251-255, 1993.

JAN, F.; PETTERSSON, S. Aluminium sensitivity of two up land rice cultivars at various levels of nutrient supply. **Journal of Plant Nutrition**, 18:1323-1335, 1995.

KINRAIDE, T.B. Identity of the rhizotoxic aluminum species. **Plant and Soil**, 134:167-178, 1991.

KOCHIAN, L.V. Cellular mechanism of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 46:237-60, 1995.

MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. **Acta Botanica Neerlandica**, 41:293-298, 1992.

MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, F.; TORIKAI, H.; TAKAHASHI, E. Localization of absorbed aluminium in pea root and its binding to nucleic acid. **Plant Cell Physiology**, 17:627-631, 1976.

ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétrico e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 30:633-638, 1995.

RYAN, P.R.; DITOMASO, J.M.; KOCHIAN, L.V. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. **Journal of Experimental Botany**, 44:437-446, 1993.

SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; JHAM, G.N.; BARROS, N.F.; GEBRIM, F. .; NUNES, F, N.; NEVES, J.C.L.; LEITE, F.P. Responses of eucalypt species to aluminum: the possible involvement of low molecular weight organic acids in the Al tolerance mechanism. **Tree Physiology**, 24:1267-1277, 2004.

SIVAGURU, M.; HORST, W.J. The distal part of the transition zone is the most aluminium-sensitive apical root zone of maize. **Plant Physiology**, 116:155-163, 1998.

SIVAGURU, M.; PALIWAL, K. Differential aluminum tolerance in some tropical rice cultivars. II. Mechanism of aluminum tolerance. **Journal Plant Nutrition**, 16:1717-1732, 1993.

STAB, A.; HORST, W.J. Effect of aluminium on membrane properties of soybean (*Glycine max*) cells in suspension culture. **Plant and Soil**, 171:113-118, 1995.

TAHARA, K.; NORISADA, M.; YAMANOSHITA, T.; KOJIMA, K. Role of aluminum-binding ligands in aluminum resistance of *Eucalyptus camaldulensis* and *Melaleuca cajuputi*. **Plant and Soil**, 302:175-187, 2008a.

TAHARA, K.; YAMANOSHITA, T.; NORISADA, M.; HASEGAWA, I.; KASHIMA, H.; SASAKI, S.; KOJIMA, K. Aluminum distribution and reactive oxygen species accumulation in root tips of two *Melaleuca* trees differing in aluminum resistance. **Plant and Soil**, 307:167-178, 2008b.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42:289-292, 2007.

YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; DEVI, S. R.; RIKIISHI, S.; MATSUMOTO, H. Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots. **Plant and Soil**, 255:239-243, 2003.

ZONTA, E.; BRASIL, F. C.; GOI, S. R.; ROSA, M.M.T. **Sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico**. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, SBCS, 2006. p.7-52.

**CAPÍTULO 3**  
**TOLERÂNCIA DA ERVA-MATE AO ALUMÍNIO RELACIONADA À**  
**PRESENÇA DE BORO E DE FENÓLICOS**

## INTRODUÇÃO

A ocorrência natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em solos com baixo pH e elevados teores de alumínio (Al) (Carvalho, 2003), aliada aos altos teores de Al encontrados em suas folhas (Reissmann et al., 1983; Radomski et al., 1992; Reissmann et al., 1999; Oliva, 2007) são indícios de que a espécie é tolerante a este elemento.

A presença de compostos fenólicos na erva-mate (Filip et al., 2001; Bastos et al., 2007) pode estar relacionada à tolerância da espécie ao Al, uma vez que altas concentrações de compostos fenólicos foram encontradas em algumas espécies tolerantes ao Al (Barceló e Poschenrieder, 2002), sendo associados com a tolerância nas raízes de algumas plantas lenhosas (Ofei-Manu et al., 2001). A capacidade que os compostos fenólicos possuem de complexar metais indica sua relação com a tolerância ao Al (Ofei-Manu et al., 2001). Estes pesquisadores reportam que compostos fenólicos formam fortes complexos com o Al em pH neutro (no citosol) e promovem a desintoxicação do Al internamente em chás. Kidd et al. (2001) sugerem que os compostos fenólicos tenham um importante papel na tolerância do Al na rizosfera do milho. Já Barceló e Poschenrieder (2002) observaram que alguns compostos fenólicos podem formar complexos estáveis com o Al, contribuindo para a sua desintoxicação nos tecidos. No entanto, apesar de a exsudação radicular de compostos fenólicos ser descrita (Marschner, 1995), a influência destes na resistência de plantas ao Al ainda tem sido pouco estudada (Tolrà et al., 2005).

O boro (B) é um elemento essencial (Blevins e Lukaszewski, 1998) e regula a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de fenóis (Camacho-Cristóbal et al., 2002). Sua principal função está relacionada à síntese de parede celular (Brown e Hu 1997; Matoh e Kobayashi 1998), além de atuar no transporte de açúcares, lignificação, metabolismo de carboidratos, fenóis e integridade da membrana plasmática (Parr e Loughman, 1983; Marschner, 1995). A deficiência de B ocasiona redução e deformação das zonas de crescimento, como raízes e folhas jovens (Dechen e Nachtigall, 2006). Já o Al é considerado um elemento tóxico para a maioria das plantas (Foy et al., 1978, Beutler et al., 2001), e os primeiros sintomas da toxicidade normalmente são percebidos pela inibição do crescimento das raízes (Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995; Sivaguru e Horst., 1998; Tabuchi e Matsumoto, 2001).

Interação entre B e Al em plantas tem sido proposta (Horst et al., 2010) devido a similaridade na forma do Al  $[Al(OH)_3]$  com a do B  $[B(OH)_3]$  no interior da planta (Kochian, 1995). Além disso, refere-se a similaridade dos sintomas de toxidez por Al e

de deficiência de B (Brown et al., 2002). Considerando esses dois aspectos, foi proposto que o Al pode exercer seu efeito tóxico induzindo a deficiência de B (Blevins e Lukaszewski, 1998). Por outro lado, o fornecimento adicional de B pode diminuir a toxicidade por Al (Lenoble et al., 1996 a, b; Yang e Zhang, 1998) e a deficiência de B agrava a toxicidade do Al nas raízes (Stass et al., 2007). No entanto, essa interação não foi estudada em plantas tolerantes ao Al, como a erva-mate (ver capítulo 1).

Como a síntese de compostos fenólicos está relacionada à disponibilidade de B (Marschner, 1995) e a participação de fenóis é tida como um dos mecanismos de tolerância ao Al (Barceló e Poschenrieder, 2002; Tolrà et al., 2005), justifica-se a busca de informações sobre a nutrição bórica em erva-mate para um entendimento dos mecanismos de tolerância ao Al. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi de avaliar o envolvimento do boro e dos compostos fenólicos na tolerância da erva-mate ao Al, assim como, a influência do Al no crescimento da espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido em casa de vegetação com mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), com aproximadamente quatro meses de idade, cultivadas em sistema hidropônico. O clone utilizado foi o A03 procedente do município de Colombo-PR e produzido por miniestaquia.

Os tratamentos foram dispostos com quatro repetições, no delineamento em blocos casualizados. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3L de solução contendo três mudas. Os tratamentos foram: sem aplicação de B e Al; aplicação de 92,6  $\mu\text{mol/L}$  de B e sem aplicação de Al; sem aplicação de B e aplicação de 1000  $\mu\text{mol/L}$  de Al e aplicação de 92,6  $\mu\text{mol/L}$  de B e 1000  $\mu\text{mol/L}$  de Al, na forma de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) e cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

No momento da transferência das mudas do substrato para solução nutritiva, suas raízes foram lavadas em água deionizada, para remover totalmente o substrato aderido a elas. A solução nutritiva utilizada foi a de Wendling et al. (2007) modificada. A concentração dos macronutrientes (mmol/L) e dos micronutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ ) e as respectivas fontes utilizadas foram: N = 8,86 ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); P = 0,48 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ); K = 3,58 ( $\text{KCl}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ); Ca = 3,00 ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); Mg = 1,36 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); S = 1,87 ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ); B = 46,30 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ); Cu = 7,87 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ); Mn = 36,43 ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); Zn = 15,30 ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); Fe = 90,00 ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e Mo = 0,73 ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Esta solução foi utilizada com metade da força iônica. As mudas

foram mantidas na solução nutritiva durante 80 dias para aclimação e após este período aplicaram-se os tratamentos.

O pH das soluções foi ajustado a cada dois dias com HCl 0,1 mol/L ou NaOH 0,1 mol/L para 4,2 ( $\pm$  0,2). As soluções foram mantidas sob arejamento constante e substituídas a cada dez dias.

Na data de aplicação dos tratamentos mediu-se a altura, diâmetro do colo e o comprimento da maior raiz. As medições foram repetidas após 80 dias, para determinação do incremento. Após esse período, as plantas foram retiradas e separadas em raiz, folha e caule e, posteriormente, todos os órgãos foram lavados com água deionizada. Imediatamente, determinou-se o comprimento do sistema radicular (CR), volume do sistema radicular (VR) e área foliar (AF), utilizando-se um scanner acoplado ao software Winrhizo modelo LA 2400, versão 2009. Posteriormente, o material foi levado para estufa a 65 °C, para determinação de matéria seca da folha (MSF), do caule (MSC), da raiz (MSR) e total (MST). Em seguida, o material foi moído, separadamente, em moinho tipo Wiley para determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, Mn, B e Al.

O teor de N foi determinado somente nas folhas, seguindo o método descrito por Bremner (1996). Os demais elementos foram determinados em todos os órgãos. O P foi determinado por colorimetria, pela redução do fosfomolibdato pelo ácido ascórbico (Braga e Deffelipo, 1974). O B através de calcinação em mufla a 550° C e determinado colorimetricamente a 410 nm (Wolf, 1974). O K foi dosado por fotometria de emissão em chama, e os demais por espectrofotometria de absorção atômica (Tedesco et al., 1995).

A determinação dos compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada nas folhas e raízes que, após secas e trituradas, foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno de alta densidade e mantidas em ultra freezer a -80 °C. Na extração, utilizou-se 0,3 g da amostra com 10 mL de água deionizada, permanecendo durante 5 minutos em banho-maria a 100 °C. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 3500 rpm durante 20 minutos, retirado o sobrenadante e este centrifugado novamente durante o mesmo tempo e rotação.

A partir desse extrato determinou-se o teor de CFT em leitora de ELISA, com leitura da absorbância a 750 nm e o reativo de Folin-Ciocalteu, conforme Singleton e Rossi (1965). Para quantificação dos compostos fenólicos utilizou uma curva padrão externa de epigallocatequina galato nas concentrações entre 50 e 1250 µg/mL. Os



resultados foram expressos em mg de equivalente de epigallocatequina galato/g de folha e, ou, raiz de erva-mate seca.

Para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos, as amostras foram submetidas à extração em fase sólida, utilizando cartucho de fase reversa (SPE-C18, 3mL - J.T. Baker), previamente condicionada com 3 volumes de hexano e metanol, sequencialmente. Em seguida, 3 mL do extrato aquoso foram adicionados ao cartucho, permanecendo por 5 minutos em contato com o mesmo. A eluição das amostras foi realizada pela adição de 9 mL de metanol. Para a análise cromatográfica foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu LC-10, Japão) equipado com coluna de fase reversa (Shim-pack C18, 4,6 mm diâmetro x 250 mm comprimento), na temperatura de 40 °C, e detector UV-Vis (Shimadzu SPD 10A,  $\lambda = 280$  nm). O fluxo utilizado foi de 0,8 mL/min, utilizando como fase móvel uma mistura de água: ácido acético: n-butanol (350:1:10, v/v/v). O volume injetado foi de 10  $\mu$ L/amostra. Para a quantificação dos compostos fenólicos utilizou curva padrão externa de ácido gálico. A identificação dos compostos fenólicos foi realizada a partir da comparação dos tempos de retenção dos padrões com os das amostras.

As características foram submetidas à análise da variância e adotou-se o nível de 5 % ( $p < 0,05$ ), empregando-se o software Sisvar (Ferreira, 2008).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Crescimento**

A maioria das características de crescimento foi influenciada pela interação B e Al, com maior crescimento quando o Al foi aplicado à solução, independente da presença ou não de B (Figura 1).

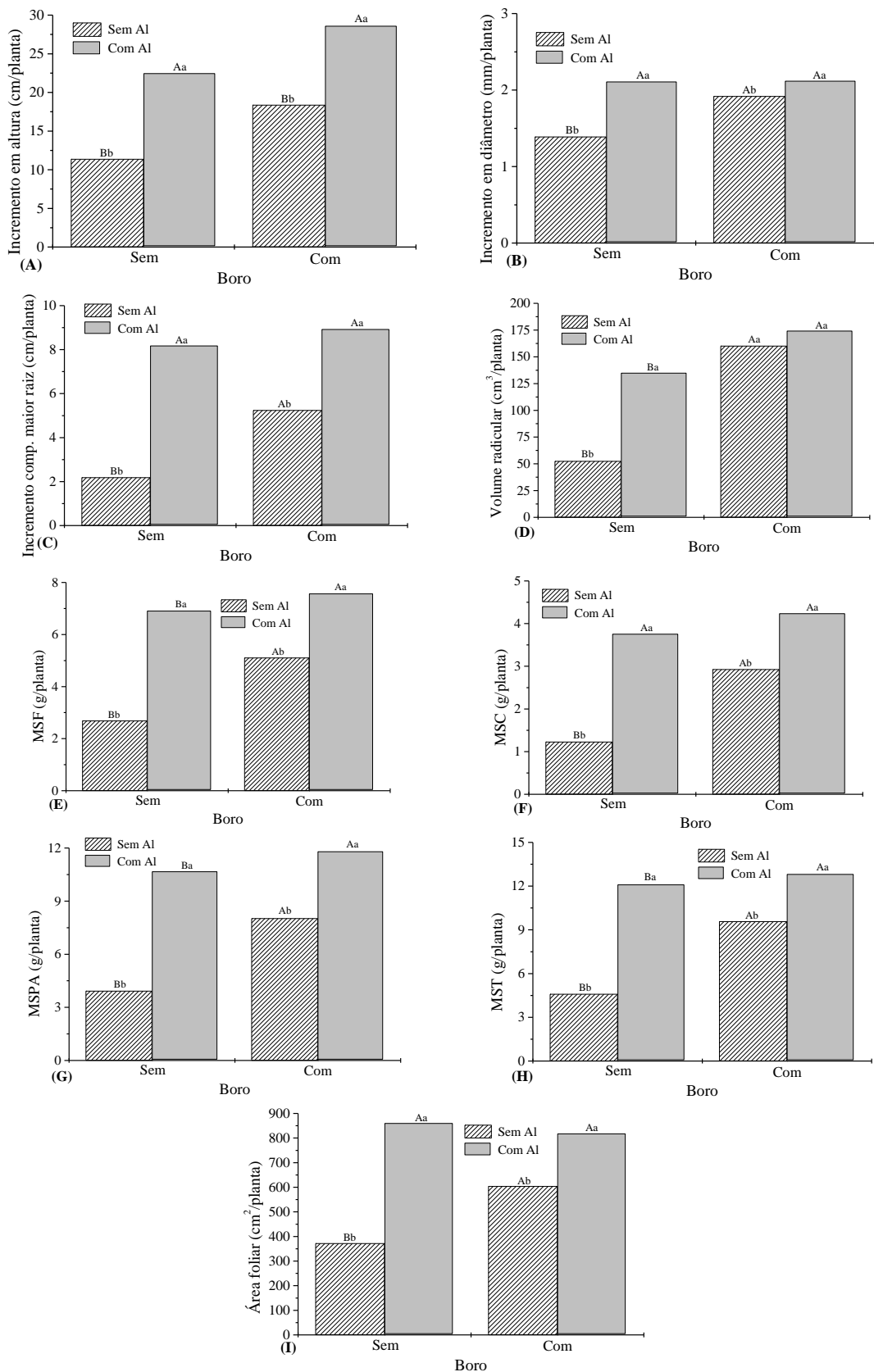
Quando não houve aplicação de B, a presença de Al proporcionou ganhos de 97, 52, 273, 156, 157, 206, 172, 163 e 130 % respectivamente para incremento em altura, em diâmetro, comprimento da maior raiz e volume do sistema radicular, MSF, MSC, MSPA e da MST, e área foliar (Figura 1). Ganhos superiores aos 55, 10, 70, 8, 48, 44, 47, 44 e 35 % respectivamente, para as mesmas características quando da aplicação combinada de B com Al (Figura 1 A, B, C, D, E, F, G, H e I). Estes resultados comprovam o efeito benéfico do Al no crescimento da erva-mate, principalmente quando a planta está com deficiência de B. Os dados reforçam os indícios de tolerância da erva-mate ao Al, pois em espécies mais sensíveis, toxicidade de Al mais acentuada ocorreu quando havia deficiência de B (Yang e Zhang, 1998; Stass et al., 2007). De

forma similar, o B atenuou a toxidez de Al em abobrinha, alfafa (Lenoble et al., 1996a, b) e macieira (Wojcik, 2003), espécies sensíveis ao Al, sendo que em nenhum desses casos observou-se comportamento semelhante ao desse estudo, com efeito positivo do Al.

O ganho em crescimento proporcionado pelo B foi mais pronunciado na ausência de Al, com aumento de 61, 38, 139, 204, 90, 138, 104, 108 e 62 %, respectivamente para incremento em altura, em diâmetro e comprimento da maior raiz, volume do sistema radicular, MSF, MSC, MSPA, MST e área foliar (Figura 1). Quando o Al estava presente na solução o efeito aditivo do B foi de 27, 0,5, 9, 29, 9, 13, 11 e 14 % respectivamente, para as mesmas características, com exceção para área foliar em que o aumento de 5 % foi observado quando não houve aplicação de B (Figura 1 A, B, C, D, E, F, G, H e I).

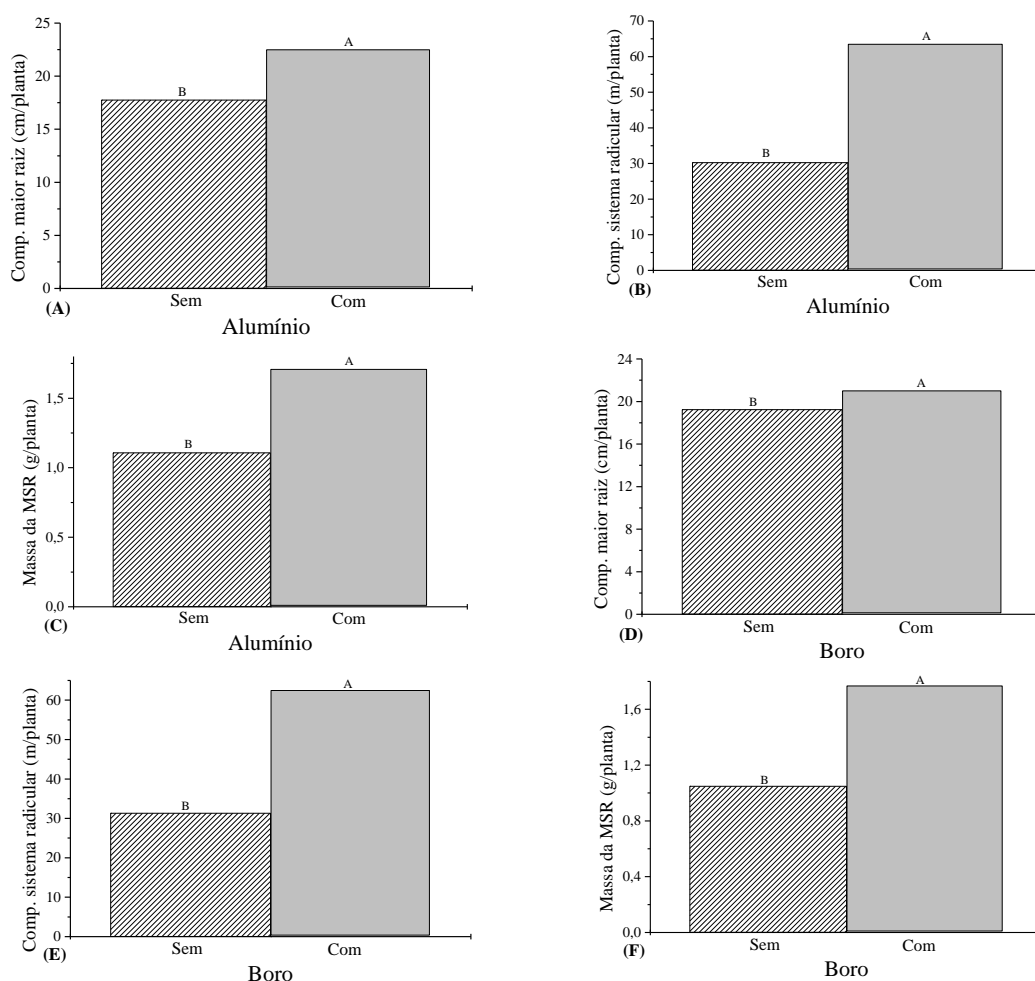
O acréscimo no crescimento de 22, 9, 55, 35, 28, 33, 26 e 42 %, proporcionado pelo Al em relação ao B, respectivamente para o incremento em altura, em diâmetro, comprimento da maior raiz, massa da MSF, MSC, MSPA e MST e área foliar (Figura 1A, B, C, E, F, G, H e I) fortalece os indícios de que a erva-mate é tolerante ao Al e esse proporciona efeito benéfico. Em chá, Chen et al. (2011) sugerem que o Al tenha algum papel na nutrição das plantas e que, em plantas tolerantes, ele seja essencial a algum processo fisiológico, o que pode explicar o fato do maior efeito no crescimento proporcionado pelo Al em relação ao B.

Mesmo que o Al tenha estimulado o maior crescimento da erva-mate, em relação ao B, seu efeito não superou o proporcionado pelo B e Al conjuntamente, indicando o efeito sinérgico deles no crescimento da planta.



**Figura 1:** Incremento em altura (A), diâmetro (B), do comprimento da maior raiz (C); volume do sistema radicular (D); massa da matéria seca da folha (E), do caule (F), da parte aérea (G) e total (H) e área foliar (I). Dentro de cada nível de Boro, médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem pelo teste F a 5%. Dentro de cada nível de AI, médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem pelo teste F a 5%.

Algumas características de crescimento radicular foram influenciadas pela adição de B e Al separadamente (Figura 2), sendo que tanto o B quanto o Al favorecerem o crescimento radicular. A aplicação de Al proporcionou ganhos de 26, 109 e 54 % respectivamente para comprimento da maior raiz, comprimento do sistema radicular e MSR (Figura 2A, B e C) e a aplicação de B proporcionou aumento de 9, 99 e 69 % respectivamente, para as mesmas características (Figura 2D, E e F).



**Figura 2:** Comprimento da maior raiz (A), do sistema radicular (B) e massa da matéria seca da raiz (C) influenciados pela ausência e presença de Al; comprimento da maior raiz (D), do sistema radicular (E) e massa da matéria seca da raiz (F). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de F a 5 %.

O estímulo ao crescimento da raiz proporcionado pelo B decorre de sua função na divisão celular e no crescimento da zona distal das raízes (Dell e Huang, 1997), melhorando a absorção de água e nutrientes (Rose et al., 1991) e o crescimento (Brown e Hu 1997; Matoh e Kobayashi 1998; Sheng et al., 2009).

Normalmente, o principal sintoma da toxidez por Al é a diminuição do crescimento das raízes (Cabraia et al., 1991; Fráguas, 1993; Baligar et al., 1995), comportamento não observado neste estudo (Figura 2A, B e C). Esse resultado aliado ao maior ganho em comprimento de raiz proporcionado pelo Al, em relação ao B, fortalece a hipótese de que a erva-mate tolera o Al.

### **Status nutricional**

O teor da maioria dos nutrientes foi influenciado pelo B e Al conjuntamente (Tabela 1). O maior teor de P, K, Ca, Cu e Fe foram detectados na ausência de B e Al, indicando um efeito de concentração (Tabela 2). O menor teor de Mn foi observado na ausência de Al e B e, a aplicação de B e Al proporcionou maior teor de Zn (Tabela 1). O teor de N foi influenciado pela presença (31,7 g/kg) e ausência (33,7 g/kg) de Al, e o de Mg não foi influenciado pelos tratamentos.

De forma geral, os tratamentos não ocasionaram grandes alterações no estado nutricional das plantas. Os teores de N, K, Ca, Cu, Fe e Mn, encontram-se acima do necessário para máxima produção da parte aérea de erva-mate (Santin et al., 2012a,b). Para o P os teores estão abaixo do necessário para obtenção da máxima produção de matéria seca total (Santin et al., 2012a), ao contrário do Zn que encontra-se com teor acima do normalmente encontrado (Santin et al., 2012a,b).

O teor de B foliar e radicular foi influenciado pelo B e Al, e o teor de B no caule foi influenciado apenas pelo B (Figura 3A, B, C, D e E). O teor foliar de B entre 30 e 50 mg/kg é considerado adequado, e baixo quando abaixo de 15 mg/kg (Malavolta et al., 1997). No entanto, para Epstein e Bloom (2004) a concentração pode variar de 5 a 300 mg/kg. Para erva-mate não há relatos de teores adequados, apenas de obtidos à campo com plantas adultas, variando de 29,5 a 170 mg/kg (Reissmann et al., 1983; Oliva, 2007), superiores ao teor máximo de 12,4 mg/kg obtido neste estudo.

Não foram visualizados sintomas de deficiência, inclusive no tratamento sem aplicação de B, o que indica que a planta, durante o período de aclimação, acumulou reservas suficiente para suprir a demanda de B durante o período experimental. Mesmo o B sendo considerado pouco móvel na maioria das plantas (Dordas et al., 2001), a mobilidade do B de folhas velhas para as novas comprovado pelo mesmo teor (5,1 mg/kg) observado nas folhas basais e apicais, deve ter suprido a necessidade da planta.

Tabela 1: Teor de nutrientes nas folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) com alumínio e boro na solução nutritiva.

Tratamentos			Teor de elementos na folha <sup>1/</sup>							
			P	K	Ca	Cu	Zn	Fe	Mn	
			----- g/planta -----			----- mg/planta -----				
Boro	Sem	Al	Sem	1,73Aa	32,3Aa	8,8Aa	31,4Aa	264,4Ba	178,7Aa	1296,9Bb
			Com	1,31Bb	25,5Ab	5,8Ba	20,0Ab	289,2Ba	104,8Aa	1670,0Aa
	Com	Sem	1,68Aa	27,6Ba	7,6Ba	24,2Ba	345,0Ab	121,6Ba	1550,3Aa	
		Com	1,64Aa	24,9Ab	7,4Aa	18,1Ab	418,8Aa	94,8Bb	1611,1Aa	

<sup>1/</sup> Dentro de cada nível de B, médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem pelo teste F a 5 %. Dentro de cada nível de Al, médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem pelo teste F a 5 %.

Tabela 2: Conteúdo de nutrientes nas folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) com alumínio e boro na solução nutritiva.

Tratamento			Conteúdo de elementos na folha <sup>1/</sup>						
			N	K	Mg	Cu	Fe	Mn	
			----- mg/planta -----			----- µg/planta -----			
Boro	Sem	Al	Sem	90,8Bb	86,9Bb	11,5Bb	84,7Bb	481,3Bb	3492,6Bb
			Com	220,4Ba	176,2Aa	29,6Ba	138,4Aa	723,8Aa	11549,2Aa
	Com	Sem	172,9Ab	140,9Ab	23,6Ab	124,0Ab	620,8Ab	7914,7Ab	
		Com	238,7Aa	188,6Aa	33,1Aa	137,1Aa	717,4Aa	12190,7Aa	

<sup>1/</sup> Dentro de cada nível de B, médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem pelo teste F a 5 %. Dentro de cada nível de Al, médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem pelo teste F a 5 %.

Tabela 3: Conteúdo de elementos nas folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) com alumínio e boro na solução nutritiva.

Tratamento		Conteúdo de elementos na folha <sup>1/</sup>				
		P	Ca	Zn	Al	B
		----- mg/planta -----			----- µg/planta -----	
Alumínio	Com	10,7A	48,2A	2583,4A	599,8A	68,4A
	Sem	6,6B	31,3B	1236,8B	172,8B	37,3B
Boro	Com	10,5A	47,6A	2465,1A	429,0A	79,1A
	Sem	6,9B	32,0B	1355,1B	343,6B	26,6B

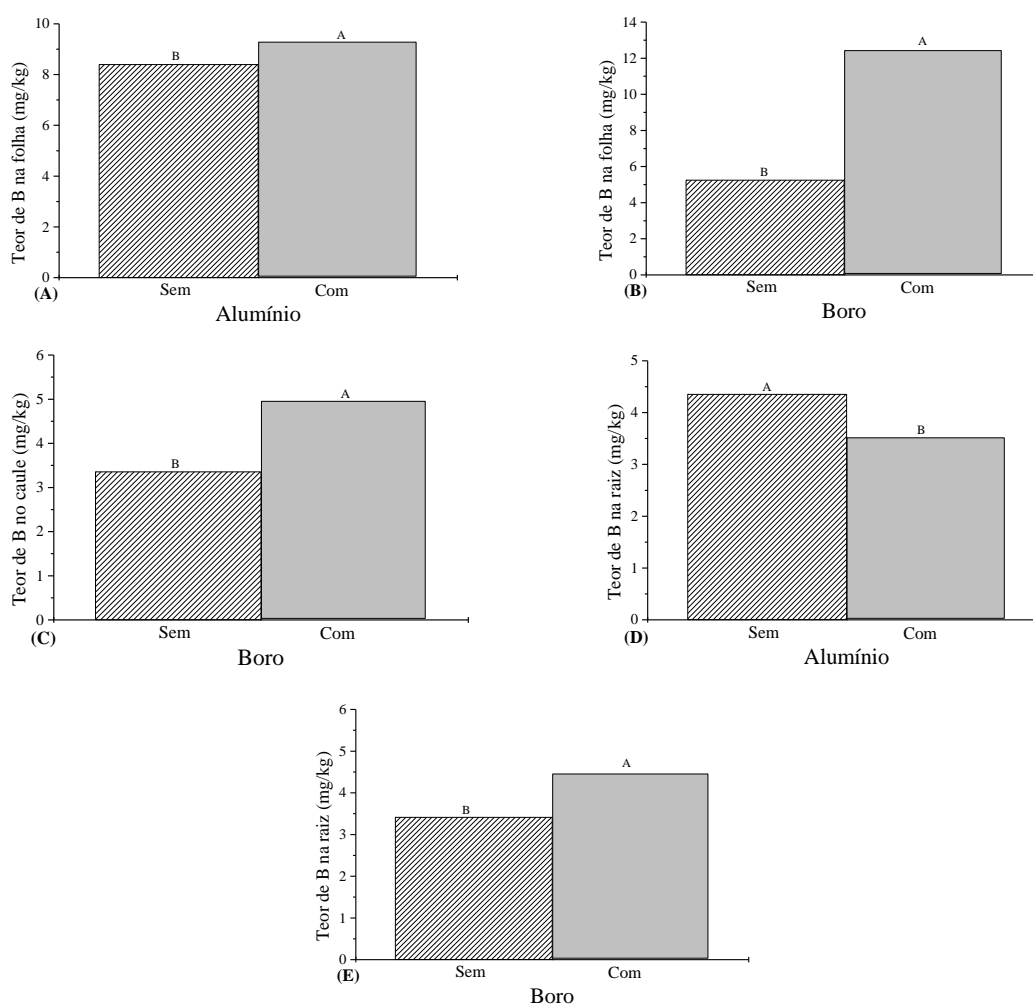
<sup>1/</sup> Dentro de cada nível de B e, ou, Al médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste F a 5 %.

O teor de B no caule foi de 3,4 e 5,00 mg/kg e nas raízes de 3,4 e 4,5 mg/kg respectivamente sem e com B, com pequena variação com presença ou ausência do Al. Não há informações sobre teores adequados de B nesses órgãos para a espécie, os quais podem ser considerados adequados, visto o bom crescimento e a falta de sintomas de deficiência.

Maiores teores foram observados com adição de B e Al, seguido do tratamento sem aplicação de B na presença do Al (Figura 4A, B e C). Os teores foliares estão bem abaixo do normalmente encontrado em erva-mate adulta (Reissmann et al., 1983; Radomski et al., 1992; Reissmann et al., 1999; Oliva, 2007) e do encontrado no caule (Figura 4B) e na raiz (Figura 4C).

Os maiores conteúdos foliares observados com aplicação conjunta de B e Al (Tabela 2), e Al e B separadamente (Tabela 3) demonstram o efeito benéfico do Al no

crescimento e nutrição. Além da magnitude da resposta observada na presença do Al ser similar ao do B (Tabela 3), evidências que indicam que o Al não é tóxico para a ervamate e, por isso, a presença do B na diminuição da toxicidade do Al (Lenoble et al., 1996 a, b; Yang e Zhang, 1998; Stass et al., 2007, Achary et al., 2008; Yu et al., 2009) nessa condição não é necessária.

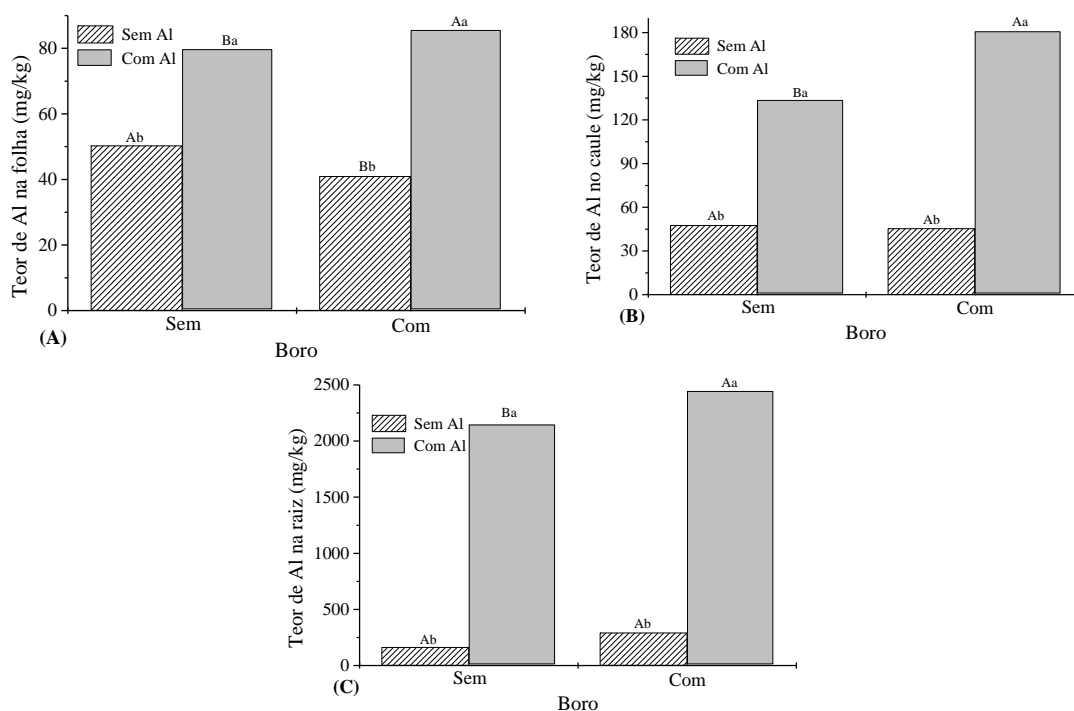


**Figura 3:** Teor de B na folha (A), (B); teor de B no caule (C) e teor de B na raiz (D) e (E). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de F a 5 %.

Os resultados aqui encontrados são diferentes dos observados em *Phaseolus vulgaris*, *Allium cepa* e *Pisum sativum* nos quais a presença do B reduziu a absorção de Al e sua consequente toxicidade (Stass et al., 2007, Achary et al., 2008; Yu et al., 2009). Em linho (*Linum usitatissimum*), Heidarabadi et al. (2011) observaram que o Al não afetou o conteúdo de B nas raízes, enquanto que concentrações mais elevadas de B diminuiram o conteúdo de Al e impediram o efeito inibitório do Al sobre as raízes. Esses autores enfatizam que, enquanto o Al não tem nenhum papel na absorção de B,

este possui efeitos sobre a absorção do Al pelas plantas. Aumento no conteúdo de Al foi observado em raízes de linho com deficiência de B em razão de um maior número de sítios de ligação para Al na parede celular em plantas deficientes em B.

A maior sensibilidade das espécies mencionadas ao Al pode explicar o comportamento diferente ao observado neste estudo, em que o efeito do Al no crescimento e no status nutricional, em magnitude similar ao do B, são evidências que pode indicar substituição do B pelo Al.



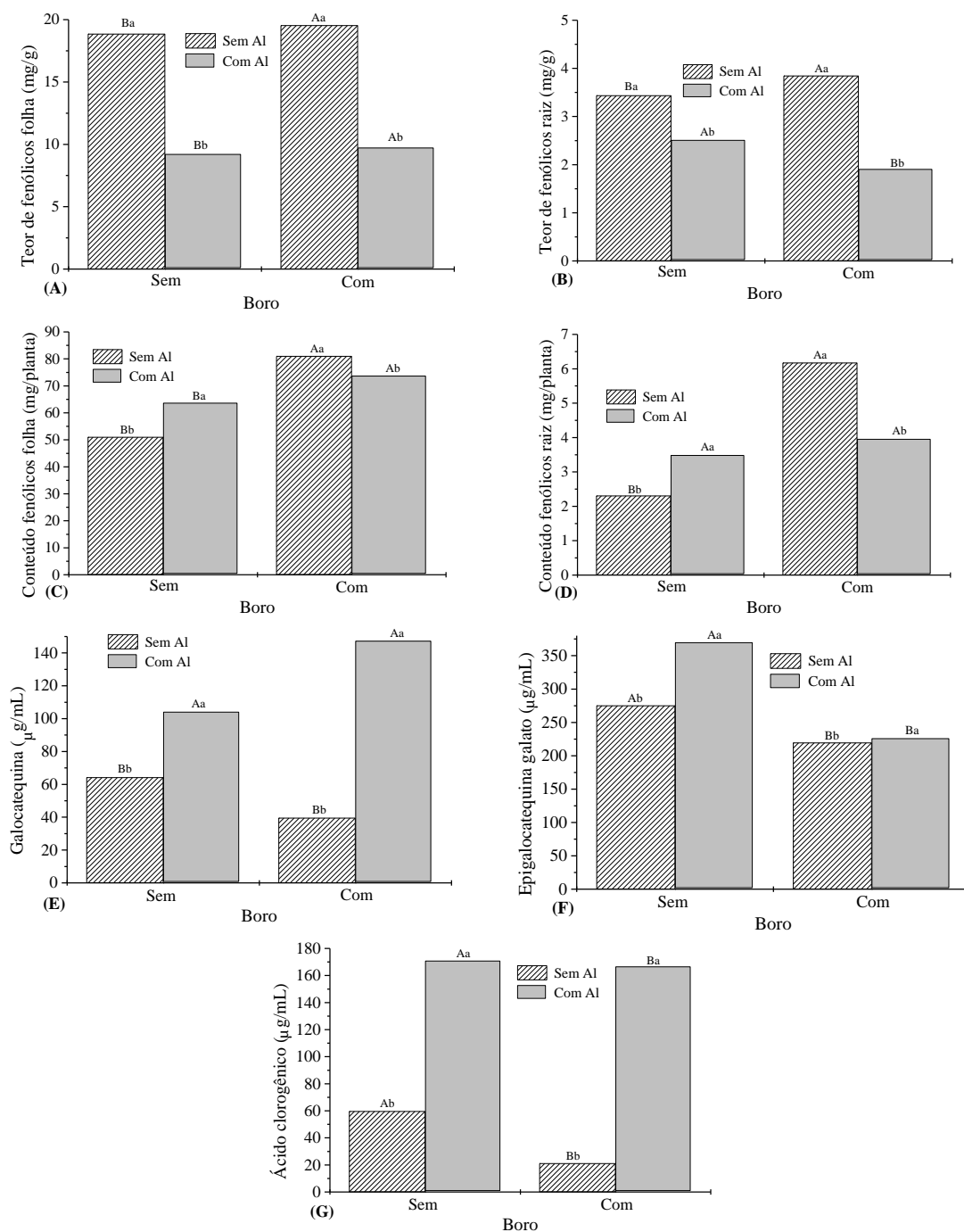
**Figura 4:** Teor de Al na folha (A); no caule (B) e na raiz (C). Dentro de cada nível de B, médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem pelo teste de F a 5 %. Dentro de cada nível de Al, médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem pelo teste de F a 5 %.

### Composição Fenólica

Os maiores teores totais e conteúdo de fenólicos nas folhas e raízes foram observados quando se adicionou B sem aplicação de Al na solução (Figura 5A, B, C e D).

O B é um dos nutrientes responsáveis pelo metabolismo de compostos fenólicos (Blevins e Lukaszewski, 1998), e em sua deficiência, o teor de fenólicos aumenta (Marschner, 1995; Camacho-Cristóbal et al., 2002; Heidarabadi et al., 2011). No entanto, o maior teor e conteúdo de fenólicos totais na folha e raiz foi observado quando o B foi aplicado à solução na ausência de Al (Figura 5A, B, C e D).





**Figura 5:** Teor de fenólicos totais na folha (A) e raiz (B) e conteúdo de fenólicos na folha (C) e na raiz (D) e conteúdo de galocatequina (E), epigalocatequina galato (F) e ácido clorogênico (G). Dentro de cada nível de B, médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem pelo teste de F a 5 %. Dentro de cada nível de Al, médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não diferem pelo teste de F a 5 %.

Aparentemente a tolerância da erva-mate ao Al não possui ligação com os fenólicos, quando avaliado somente o teor total. No entanto, ao qualificá-los percebe-se aumento de galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico quando o Al foi adicionado à solução, independente da presença ou não de B (Figura 5E, F e G).

A tolerância da erva-mate ao Al, provavelmente, é resultante da atuação de vários mecanismos. Além da participação dos fenólicos, principalmente a galocatequina e ácido clorogênico, provavelmente ácidos orgânicos tenham função importante nessa característica, aliada a outros como, o acúmulo de Al na raiz (Mattiello et al., 2008) e ou seu acúmulo em locais ou organelas menos ativas das plantas (Tolrà et al., 2011).

Quando não houve aplicação de B, a presença de Al proporcionou aumentos de 62, 34 e 185 % respectivamente para galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico; quando se aplicou B, a presença do Al proporcionou aumentos de 271, 3 e 682 % respectivamente para os mesmos compostos (Figura 5E, F e G).

Em variedade de milho resistente ao Al houve exsudação de catequina e quercetina induzida pelo Al (Kidd et al., 2001). Em *Camellia sinensis*, o fornecimento de Al aumentou substancialmente as concentrações de catequina (Chen et al., 2011) e o Al foi complexado principalmente por catequinas e ácidos orgânicos (Nagata et al., 1992). O Al se liga a catequinas, pelo C-3 e C-4 do grupo hidroxila (Inoue et al., 2002; Chen et al., 2006), e a literatura não relata a participação de ácido clorogênico na complexação de Al.

Mesmo que o teor de compostos fenólicos totais não tenha aumentado com aplicação de Al (Figura 5A), a maior concentração de galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico indica a possível participação desses compostos na tolerância da erva-mate ao Al. O B, aparentemente, não possui influência sobre a tolerância da erva-mate ao Al.

## CONCLUSÕES

O B não apresenta efeito sobre a tolerância da erva-mate ao Al.

Os fenólicos galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico podem estar envolvidos na tolerância da erva-mate ao Al.

O Al possui efeito benéfico ao crescimento da erva-mate.

O B e o Al quando aplicados conjuntamente apresentam efeito sinérgico no crescimento das mudas de erva-mate.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARY, V.M.M.; JENA, S.; PANDA, K.K.; PANDA, B.B. Aluminum induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 70: 300-310, 2008.

BALIGAR, V.C.; ANGHINONI, I.; PITTA, G.V.E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameter of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, 18:2325-2338, 1995.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, 48:75-92, 2002.

BASTOS, D.H.M.; OLIVEIRA, D.M.; MATSUMOTO, R.L.T.; CARVALHO, P.O.; RIBEIRO, M.L. Yerba maté: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, 1:37-46, 2007.

BEUTLER, N.; FERNANDES, L.A.; FAQUIN, V. Efeito do alumínio sobre o crescimento de duas espécies florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:923-928, 2001.

BLEVINS, D.G.; LUKASZEWSKI, K.M. Boron in plant structure and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49:481-500, 1998.

BRAGA, J.M.; DEFFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e plantas. **Ceres**, 21:73-85, 1974.

BREMNER, J.M. **Nitrogen Total**. In: SPARTS, D. L., ed. Methods of gril analysis. Part 3 - Chemical Methods, 1996. p.1085-1121.

BROWN, P.H.; BELLALOU, N.; WIMMER, M.; BASSIL, E.S.; RIUZ, J.; HU, H.; PFEFFER, H.; DANDEL, F.; RÖMHELD, V. Boron in plant biology. **Plant Biology**, 4:205-227, 2002.

BROWN, P.H.; HU, H. Does boron play only a structural role in the growth tissues of higher plants? **Plant and Soil**, 196: 211-215, 1997.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J.; ANZELLOTTI, D., GONZÁLEZ-FONTES, A. Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, 40:997-1002, 2002.

CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A. O.; SANT'ANNA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 3:87-95, 1991.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, V. 1, 2003. 1039p.

CHEN, Y.M.; TSAO, T.M.; LIU, C.C.; LINC, K.C.; WANG, M.K. Aluminium and nutrients induce changes in the profiles of phenolic substances in tea plants (*Camellia sinensis* CV TTES, No. 12 (TTE)). **Journal Science Food Agriculture**, 91: 1111-1117, 2011.

CHEN, Y.M.; WANG, M.K.; HUANG, P.M. Catechin transformation as influenced by aluminum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54:212-218, 2006.

DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. **Micronutrientes**. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, SBCS, 2006. p.327-354.

DELL, B.; HUANG, L.B. Physiological response of plants to low boron. **Plant and Soil**, 193:103-120, 1997.

DORDAS, C.; SAH, R.; BROWN, P.H.; ZENG, Q.; HU, H. **Remobilização de micronutrientes e elementos tóxicos em plantas superiores**. In: Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. p.43-69.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição Mineral de Plantas. Princípios e perspectivas.** 2; ed. Londrina, 2004. 403 p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, 6:36-41, 2008.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American Ilex species. **Fitoterapia**, 72:774-778, 2001.

FOY, C.D.; CHANEL, R.L.; WRITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review Plant Physiology**, 29:511-566, 1978.

FRÁGUAS, J.C. Efeito do alumínio no comprimento de raízes e na absorção de fósforo e cálcio em porta enxertos de videira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 17:251-255, 1993.

HEIDARABADI, M.D.; GHANATI, F.; FUJIWARA, T. Interaction between boron and aluminum and their effects on phenolic metabolism of *Linum usitatissimum* L. roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, 49:1377-1383, 2011.

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.

INOUE, M.B.; INOUE, M.; FERNANDO, Q.; VALCIC, S.; TIMMERMANN, B.N. Potentiometric and <sup>1</sup>H NMR studies of complexation of Al<sup>3+</sup> with (-) -epigallocatechin gallate, a major active constituent of green tea. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 88:7-13, 2002.

KIDD, P.S.; LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; GUNSE, B.; BARCELO, J. The role of root exudates in aluminum resistance and silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, 52:1339-1352, 2001.

KOCHIAN, L.V. Cellular mechanism of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 46:237-60, 1995.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; MILES, R.J. Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. II. Stimulation of root growth in an acid, high-aluminium subsoil. **Plant Cell Environment**, 19:1143-1148, 1996a.

LENOBLE, M.E.; BLEVINS, D.G.; SHARP, R.E.; CUMBIE, B.G. Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. I. Maintenance of root elongation and cellular structure. **Plant Cell Environment**, 19, 1132-1142, 1996b.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MATOH, T.; KOBAYASHI, M. Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. **Journal of Plant Research**, 111:179-190, 1998.

MATTIELLO, E.M.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E.; MAURI, J.; MATIELLO, J.D.; MEIRELES, P.G.; SILVA, I.R. Produção de matéria seca, crescimento radicular e absorção de cálcio, fósforo e alumínio por *Coffea canephora* e *Coffea arabica* sob influência da atividade do alumínio em solução. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:425-434, 2008.

NAGATA, T.; HAYATSU, M.; KOSUGE, N. Identification of aluminium forms in tea leaves by <sup>27</sup>Al NMR. **Phytochemistry**, 31:1215-1218, 1992.

OFEI-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. **Soil Science Plant Nutrition**, 47:359-375, 2001.

OLIVA, E.V. **Composição química e produtividade de procedências e progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivada em Latossolo vermelho distrófico no município de Ivaí - PR.** 2007. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PARR, A. J.; LOUGHMAN, B.C. **Boron and membrane function in plants.** In: ROBB, D.A.; PIERPOINT, W.S., eds. *Metals and micronutrients, uptake and utilization by plants.* New York: Academic Press, 1983. p.87-107.

RADOMSKI, M.I.; SUGAMOSTO, M.L.; GIAROLA, N.F.B.; CAMPIOLO, S. Avaliação dos teores de macro e micronutrientes em folhas jovens e velhas de erva-mate nativa. **Revista do Instituto Florestal**, 4:453-456, 1992.

REISSMANN, C.B.; RADOMSKI, M.I.; QUADROS, R.M.B. Chemical composition of *Ilex paraguariensis* St. Hil. Under different management conditions in seven localities of Paraná State. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 42:187-194, 1999.

REISSMANN, C.B.; ROCHA, H.O; KOEHLER, C.W.; CALDAS, R.L.S.; HILDEBRAND, E.E. Bio-elementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) sobre Cambissolo na região de Mandirituba – PR. **Floresta**, 14:49-54, 1983.

ROSE, R.; ATKINSON, M.; GLEASON, J.; SABIN, T. Root volume as a grading criterion to improve field performance of Douglas-fir seedlings. **New For**, 5:195–209, 1991.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; BASTOS, M.C.; KASEKER, J.F.; REISSMANN, C. B.; BRONDANI, G.E.; BARROS, N.F.. Crescimento e nutrição de erva-mate influenciados pela adubação nitrogenada, fosfatada e potássica. **Ciência Florestal**, 2012a. No prelo.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; KASEKER, J.F.; BASTOS, M.C.; REISSMANN, C.B.; WENDLING, I.; BARROS, N.F. Nutrição e crescimento da erva-mate submetida à calagem. **Ciência Florestal**, 2012b. No prelo.

SHENG, O.; SONG, S.W.; CHEN, Y.J.; PENG, S.A.; DENG, X.X. Effects of exogenous B supply on growth, B accumulation and distribution of two navel orange cultivars. **Trees**, 23:59-68, 2009.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16:144-148, 1965.

SIVAGURU, M.; HORST, W.J. The distal part of the transition zone is the most aluminium-sensitive apical root zone of maize. **Plant Physiology**, 116: 155-163, 1998.

STASS, A.; KOTUR, Z.; HORST, W.J. Effect of boron on the expression of aluminium toxicity in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, 131: 283-290, 2007.

TABUCHI, A.; MATSUMOTO, H. Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. **Physiologia Plantarum**, 112:353-358, 2001.

TEDESCO, J.M.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEM, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de solos, Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

TOLRÀ, R.P.; POSCHENRIEDER, C.; LUPPI, B.; BARCELÓ, J. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L. **Environmental and Experimental Botany**, 54:231–238, 2005.



TOLRÀ, R.; VOGEL-MIKUS, K.; HAJIBOLAND, R.; KUMP, P.; PONGRAC, P.; KAULICH, B.; GIANONCELLI, A.; BABIN, V.; BARCELÓ, J.; REGVAR, M.; POSCHENRIEDER, C. Localization of aluminium in tea (*Camellia sinensis*) leaves using low energy X-ray fluorescence spectro-microscopy. **Journal of Plant Research**, 124:165–172, 2011.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42:289-292, 2007.

WOJCIK, P. Impact of boron on biomass production and nutrition of aluminium-stressed apple root stocks. **Journal Plant Nutrition**, 26:2439-51, 2003.

WOLF, B. Improvement in the azometine-H method for determination of boron. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 5:39-44, 1974.

YANG, Y.H; ZHANG, H.Y. Boron amelioration of aluminum toxicity in mung bean seedlings. **Journal Plant Nutrition**, 21:1045-1054, 1998.

YU, M.; SHEN, R.; XIAO, H.; XU, M.; WANG, H.; WANG, H.; ZENG, Q.; BIAN, J. Boron alleviates aluminum toxicity in pea (*Pisum sativum*). **Plant and Soil**, 314:87-98, 2009.

## CONCLUSÕES GERAIS

O alumínio proporcionou efeitos positivos ao crescimento de plantas jovens de erva-mate.

O alumínio estimula o crescimento radicular da erva-mate, sendo o comprimento e a matéria seca das raízes bons indicadores da tolerância da espécie ao Al.

Clones de erva-mate possuem tolerância diferencial ao alumínio e seu acúmulo nas raízes mostra-se importante estratégia na tolerância a esse elemento. Assim como galocatequina, epigalocatequina galato e ácido clorogênico podem estar envolvidos na tolerância da erva-mate ao Al.

O B e o Al quando aplicados conjuntamente apresentam efeito sinérgico no crescimento das mudas de erva-mate.