

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO E MANGANÊS

SULIANNE IDALIOR PAIÃO ROSADO

MANAUS - AM

2021

SULIANNE IDALIOR PAIÃO ROSADO

SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO E MANGANÊS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Faculdade de Ciências Agrárias - UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Agronomia Tropical.

Orientador: Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos

MANAUS – AM

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R788s Rosado, Sulianne Idalior Paião
Sensibilidade do cedro ao estresse por alumínio e manganês /
Sulianne Idalior Paião Rosado . 2021
74 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: José Zilton Lopes Santos
Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal
do Amazonas.

1. Cedrela fissilis. 2. Acidez do solo. 3. Nutrição vegetal. 4.
Estresse mineral. 5. Silvicultura. I. Santos, José Zilton Lopes. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

SULIANNE IDALIOR PAIÃO ROSADO

SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO E MANGANÊS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Faculdade de Ciências Agrárias - UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Agronomia Tropical.

Aprovada em 23 de agosto de 2021.

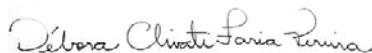
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos – Presidente
Universidade Federal do Amazonas



Dr. Cristovão Gomes Plácido júnior
Instituto Federal do Amazonas/IFAM



Drª. Débora Clivati Faria Pereira
Universidade Federal do Amazonas/UFAM



Drª. Maria do Rosario Lobato Rodrigues
EMBRAPA



Dr. Josinaldo Lopes Araujo Rocha
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus, por sua presença constante ao meu lado, por ser o meu alicerce, refúgio e por sua incomparável bondade.

Ao meu marido, Luan Samarone, pela paciência, ajuda, atenção, compreensão e incentivo em cada passo deste projeto.

Aos meus familiares, que mesmo distantes sempre me apoiaram e me incentivaram nessa jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos, por todas as contribuições, pelos ensinamentos, incentivo, paciência e confiança depositada em mim na realização deste trabalho;

À minha amiga, Jennifer Tomaz, por estar sempre me apoiando, incentivando e consolando em todos os momentos dessa caminhada.

Ao meu amigo, Nonato Junior, pela ajuda incansável nos experimentos, pela paciência e disponibilidade sempre.

À equipe do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, em especial à Tainá e Mylena, pela dedicação e apoio.

Aos professores Dr. Afrânio Ferreira Neves Junior, Dr. José Ferreira da Silva e Dr. Marciel José Ferreira, por disponibilizarem seus laboratórios e equipamentos para realização das análises

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical (PPGATR) pelo suporte e oportunidade de realizar o curso de Doutorado em Agronomia Tropical;

Aos docentes e técnicos que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Agronomia Tropical PPGATR/UFAM, pela dedicação e conhecimento compartilhado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO GERAL

Em solos ácidos, a biodisponibilidade do Al e Mn aumenta, o que potencializa o efeito fitotóxico destes elementos para as plantas. Conhecer o nível de plasticidade adaptativa das espécies florestais arbóreas com potencial madeireiro, às concentrações de Al e Mn, é essencial para subsidiar técnicas silviculturais visando a preservação e/ou aumento da produtividade destas espécies. Este estudo teve como objetivo investigar o efeito de concentrações de Al e Mn no desenvolvimento inicial de cedro. Nós cultivamos plantas com 90 dias de idade sob o efeito de cinco concentrações de Al (0; 125; 250; 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e seis concentrações de Mn (0,0; 1,5; 3,0; 9,0; 50 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$), em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Observamos que o aumento das doses de Al reduziu a absorção e o acúmulo de nutrientes, produção de massa seca, índices de fluorescência e índice de clorofila. Por outro lado, houve aumento na concentração de prolina nas raízes e na parte aérea. O nível crítico de toxicidade de Al variou de 38 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Por sua vez, o aumento das doses de Mn na fase inicial de desenvolvimento teve efeito positivo no teor de nutriente, produção de matéria seca e crescimento das raízes na faixa estimada de 2,39 a 5,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, com redução na produção de prolina. Diante disso, concluímos que o cedro é sensível a Al e exige Mn em pequenas concentrações, na fase inicial de desenvolvimento.

Palavras chave: *Cedrela fissilis*, acidez do solo, nutrição vegetal, estresse mineral, silvicultura

GENERAL ABSTRACT

In acidic soils, the bioavailability of Al and Mn increases, which enhances the phytotoxic effect of these elements for plants. Knowing the level of adaptive plasticity of tree forest species with timber potential, at concentrations of Al and Mn, is essential to support silvicultural techniques aimed at preserving and/or increasing the productivity of these species. The study aimed to investigate the effect of Al and Mn concentrations on early cedro development. We cultivated 90 days of age plants under the effect of five concentrations of Al (0; 125; 250; 500 and 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and six concentrations of Mn (0.0; 1.5; 3.0; 9,0, 50 and 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in a completely randomized design with five replications. We observed that increasing Al doses reduced nutrient absorption and accumulation, dry matter production, fluorescence index and chlorophyll index. However, we noticed an increase in the concentration of proline in roots and shoots. The critical level of Al toxicity ranged from 38 and 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$. In turn, increasing Mn doses in the early development stage had a positive effect on nutrient content, dry matter production and root growth in the estimated range of 2.39 to 5.55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Mn, with reduction in proline production. Therefore, we conclude that cedro plants are sensitive to Al and require Mn in small concentrations at this stage of development.

Keywords: *Cedrela fissilis*, soil acidity, plant nutrition, mineral stress, forestry

Lista de Figuras

- Figura 1.** Efeito de diferentes níveis de Al sobre o teor de alumínio (Al) nas raízes de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * $P < 0,01$. .. 18
- Figura 2.** Ilustração do efeito das concentrações de Al sobre mudas de *Cedrela fissilis*. Plantas cultivadas nas maiores doses de Al apresentam menor crescimento vertical e volume de raízes, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. 19
- Figura 3.** Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o acúmulo de nitrogênio (N) (a), potássio (K) (b), fósforo (P) (c), cálcio (Ca) (d), magnésio (Mg) (e), zinco (Zn) (f), ferro (Fe) (g) e alumínio (Al) (h) nas raízes de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente. 20
- Figura 4.** Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o índice de desempenho na base ABS (PI_{abs}) (a) índice de desempenho total (PI_{total}) (b), eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m) (c) e Índice relativo à clorofila (IRC) (d) nas folhas de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente. 22
- Figura 5.** Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o teor de prolina nas raízes (Prolina_R) (a) e parte aérea (Prolina_{PA}) (b) de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * $P < 0,01$ 23
- Figura 6.** Efeito de diferentes concentrações de Al sobre a massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca de raízes (MSR) (b), massa seca total (MST) (c), razão de massa seca da parte aérea (RMPA) (d), razão de massa seca de raízes (RMR)(e) e taxa de crescimento absoluto da raízes (TCA_{raiz}) (f) de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente. 24
- Figura 7.** Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o teor de manganês (Mn) (a), nitrogênio (N) (b), fósforo (P) (c), zinco (Zn) (d) e cobre (Cu) (e) na parte aérea de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 30 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente. 45
- Figura 8.** Ilustração do efeito dos níveis de Mn sobre mudas de *Cedrela fissilis* cultivadas por 30 dias sob diferentes níveis de Mn. 46
- Figura 9.** Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o acúmulo de manganês (a), nitrogênio (N) (b), potássio (K) (c), cálcio (Ca) (d), enxofre (S) (e), zinco (Zn) (f) e boro (B) (g) na parte aérea de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. ** $P < 0,05$. 47
- Figura 10.** Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o índice de desempenho na base ABS (PI_{abs}) (a), índice de desempenho total (PI_{total}) (b), eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m) (c) e Índice relativo à clorofila (ICR) (d) nas folhas de plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente. 49

Figura 11. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o teor de prolina nas raízes de plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * $P < 0,01$ 50

Figura 12. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre a produção massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca da raiz (MSR) (b), massa seca total (MST) (c), razão de massa seca da parte aérea (RMPA) (d) e taxa de crescimento absoluto das raízes (TCA_{raiz}) (e) nas plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e 0,05, respectivamente. 52

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO 1: SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1. Condições de crescimento	13
2.2. Tratamento e delineamento experimental	13
2.3. Procedimentos específicos	14
2.4. Avaliação do experimento.....	15
2.5. Análise de dados	17
3. RESULTADOS	17
3.1. Teor, sintomatologia e acúmulo de Al e nutrientes nas plantas	17
3.2. Fluorescência da clorofila e índice relativo de clorofila SPAD	21
3.3. Teor de prolina nas raízes e parte aérea	22
3.4. Crescimento das plantas	23
4. DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÕES	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 2: EFEITO DO MANGANÊS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CEDRO	36
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1. Condições de crescimento	39
2.2. Tratamento e delineamento experimental	39
2.3. Procedimentos específicos	39
2.4. Avaliação do experimento.....	41
2.5. Análise de dados	43
3. RESULTADOS	43
3.1. Teor, sintomatologia e acúmulo de nutrientes nas plantas	43
3.2. Fluorescência da clorofila e índice relativo de clorofila SPAD	48
3.3. Teor de prolina nas raízes.....	49
3.4. Crescimento das plantas	50
4. DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS	64

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, a intensa demanda por produtos madeireiros de alta qualidade no Brasil tem aumentado a pressão sobre as populações nativas de espécies florestais (ZEUGIN et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2020). Além disso, a compreensão silvicultural da produção de mudas de espécies florestais nativas com potencial madeireiro é incipiente (MARANHO, PAIVA e PAULA, 2013), especialmente em relação à exigência nutricional nas fases de crescimento (CAIONE, LANGE e SCHONINGER, 2012). Desta forma é necessário esforços para o estabelecimento dessas espécies em programas de enriquecimento de florestas ou mesmo em plantios puros (SCHULZE et al., 2008; HOCH et al., 2009; KEEFE et al., 2012), visando a produção de madeira serrada de alta qualidade (LIU et al., 2014) para atender a demanda global.

Vários fatores têm dificultado o sucesso da silvicultura com estas espécies, tornando-se uma atividade de alto risco (PLATH et al., 2011). Dessa forma, uma compreensão do requerimento ecofisiológico, em especial as características químicas do solo, é de fundamental para o desenvolvimento de um sistema sustentável para a produção de madeira em florestas implantadas em solos altamente intemperizados, distróficos, álicos e com elevada concentração de alumínio (Al) e/ou manganês (Mn) no trópico úmido (WEBB et al., 2000) e biomas afins. A dinâmica desses plantios pode ser bastante diferente fora da floresta amazônica, tal como nas regiões de transições Amazônia-cerrado e outros com potencial para cultivo, o que exigirá novos modelos silviculturais para manejos de cedro (*Cedrela fissilis*) e espécies madeireiras similares (SCHULZE et al., 2008; HALL et al., 2011).

O cedro (*Cedrela fissilis*), pertencente à família Meliaceae, considerada uma espécie secundária a clímax (RENÓ et al., 1997), ocorre naturalmente em florestas tropicais (SANCHES et al., 2017) e, na Floresta Amazônica, é encontrada em ambientes de terra firme (CARRERO et al., 2014). Tem potencial madeireiro e apresenta grande importância econômica e ambiental para o Brasil, devido à alta qualidade de sua madeira (SANCHES et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2020).

Na região de ocorrência predominam Latossolos e Argissolos (QUESADA et al., 2011), que são solos altamente intemperizados com sua fração argila dominada por minerais silicatados 1:1 (caulinita) e minerais não silicatados como óxidos, hidróxidos e oxidróxidos de ferro (Fe), Al e Mn (SCHWERTMANN e HERBILLON, 1992). De modo

geral, esses solos são fortemente ácidos ($\text{pH} \cong 4,4$), com alta saturação por alumínio ($m = 84,3 \%$), baixos teores de fósforo (P) ($\approx \leq 5,1 \text{ mg dm}^{-3}$), de potássio (K) ($\approx 0,09 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e de matéria orgânica, variando de 2 a $3,1 \text{ g kg}^{-1}$, baixa saturação por bases ($\approx 12,72 \%$) (MOREIRA e FAGERIA, 2009) e elevada disponibilidade de Mn^{2+} (YAO et al., 2012).

O clima nesta região é tropical, classificado como Af (ALVES et al., 2019), com temperatura média do ar entre $24,6$ e $26,9^\circ\text{C}$, umidade relativa diária oscilando entre 75% durante os dias relativamente secos, até 92% na estação chuvosa e com precipitação média anual de 2.362 mm (ARAÚJO et al., 2002).

Em relação à dinâmica de Al no solo, à medida que o pH do solo diminui, aumenta a sua biodisponibilidade (AGGARWAL et al., 2015). No solo, o Al está presente na forma de óxidos e aluminossilicatos, sendo essas formas inofensivas para as plantas (MA, 2005). No entanto, as formas que apresentam efeito negativos nas plantas, como o Al hexahidrato octaédrico $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, geralmente expresso como Al^{3+} (AGGARWAL et al., 2015; SADE et al., 2016) tendem a predominar em solos com pH menor que $5,5$.

O efeito tóxico do Al sobre o crescimento das plantas depende da sua concentração no substrato de cultivo, tempo de exposição, idade fisiológica e espécie de planta e, até mesmo, do genótipo dentro da espécie (BOJÓRQUEZ-QUINTAL et al., 2017). O sintoma inicial mais drástico da toxicidade de Al está associado a mudanças extremas no sistema radicular, com raízes atrofiadas e frágeis, e baixa formação de pelos radiculares (HORST et al., 2010; SADE et al., 2016). O Al se liga ao simplasto, na parede celular e na face apoplástica da membrana plasmática da célula da ponta da raiz, modificando sua estrutura (HORST et al., 2010; SINGH et al., 2017). Assim, a absorção e transporte de água e de nutrientes minerais, como nitrogênio (N-NH_4^+), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu) (MA, 2005; SADE et al., 2016; BOJÓRQUEZ-QUINTAL et al., 2017), nas plantas é afetado negativamente.

No solo, o Mn pode ser encontrado como Mn^{4+} , Mn^{3+} e Mn^{2+} (MARSCHNER, 2012), sendo a forma reduzida, Mn^{2+} , mais absorvida pelas plantas (HUANG et al., 2016; SIEPRAWKA et al., 2016). A dinâmica do Mn no solo é altamente influenciada pelos níveis de oxigênio e também pela acidez (SIEPRAWKA et al., 2016; SHAO et al., 2017). Assim a sua biodisponibilidade, aumenta à medida que o pH do solo diminui

(SIEPRAWKA et al., 2016), favorecendo concentrações fitotóxicas (HUANG et al., 2016).

O Mn é um elemento essencial para o metabolismo das plantas, pois participa da estrutura das proteínas (SANTOS et al., 2017), da ativação de biocatalizadores (enzimas), produção de clorofila e fotossíntese (MILLALEO et al., 2013; PAN et al., 2018). Sua deficiência prejudica a fotossíntese por danificar os cloroplastos (FERNANDO e LYNCH, 2015). No entanto, em excesso, pode atuar como um fator de estresse para as plantas (SIEPRAWKA et al., 2016). Altas concentrações de Mn podem perturbar vários processos, como absorção, redistribuição e uso de nutrientes (Ca, Fe, Mg, N e P) (LAVRES-JUNIOR et al., 2010; SANTOS et al., 2017), além de limitar a atividade do Fotossistema II (PSII), reduzindo a transferência de elétrons na cadeia transportadora de elétrons (CHEN et al., 2011). O limite de toxicidade do Mn é dependente da espécie vegetal, além de variedades ou genótipos (KOCHIAN et al., 2004; DUCIC e POLLE, 2005).

Os prejuízos resultantes do excesso de Al e Mn acarretam desarranjo nutricional (CHATZISTATHIS et al., 2011), influenciando negativamente o crescimento e a produção de muitas espécies vegetais (CHATZISTATHIS et al., 2011; DESOTGIU et al., 2012). O estresse resultante do excesso desses elementos aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) que causam danos oxidativos aos componentes celulares (SADE et al., 2016; VILLAGRA et al., 2021). No entanto, as plantas dispõem de mecanismos de defesa não enzimáticos, como o aumento da produção de prolina (CHEN et al., 2010; REJEB et al., 2014). Este aminoácido tem a função de minimizar ou evitar o estresse oxidativo (GILL e TUTEJA, 2010), protegendo as estruturas de proteínas contra a desnaturação, estabilizando as membranas celulares, capturando e removendo os radicais livres, como os radicais de hidroxila (LEHMANN et al., 2010; REJEB et al., 2014).

De modo geral, os dados disponíveis sobre os efeitos Al e Mn no crescimento das plantas são relacionados, principalmente, à espécies agronômicas. Diante disso, é fundamental compreender as respostas fisiológicas e bioquímicas ao Al e Mn das espécies florestais, com potencial madeireiro, possibilitando a definição de estratégias de multiplicação e preservação das mesmas. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito de Al e Mn, bem como buscar estabelecer os níveis ótimos de Mn necessários para o desenvolvimento inicial de *Cedrela fissilis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, A.; EZAKI, B.; MUNJAL, A.; TRIPATHI, B.N. **Physiology and biochemistry of aluminium toxicity and tolerance in crops**. In: Tripathi BN, Mueller M (eds) Stress responses in plants: mechanisms of toxicity and tolerance. Springer: Switzerland p. 35-57, 2015.

ALVES, R.C.; TRES, A.; SOARES, R.V.; WEDLING, W.T.; TETTO, A.L. 2019. Classificação climática para o estado do Amazonas segundo as zonas de vida de Holdridge. **Revista Ciência Agrária**, v. 62.

ARAÚJO, A.C. et al. 2002. Comparative measurements of carbon dioxide fluxes from two nearby towers in a central Amazonian rainforest: The Manaus LBA site. **Journal of Geophysical Research**, 107 (20): 1–20.

BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; ESCALANTE-MAGAÑA, C.; ECHEVARRÍA-BORGO, L. 2017. Evaluation of buffers toxicity in tobacco cells: homopiperazine-1, 4-bis (2-ethanesulfonic acid) is a suitable buffer for plant cells studies at low pH. **Plant Physiology and Biochemistry**., 115: 119–125.

CAIONE, G.; LANGE, A.; SCHONINGER, E.L. 2012. Crescimento de mudas de *Schizolobium amazonicum* (Huber ex Ducke) em substrato fertilizado com nitrogênio, fósforo e potássio. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, 40 (94): 213–221.

CARRERO, G.C.; PEREIRA, R.S.; JACAÚNA, M.A.; LIMA JUNIOR, M.J. *Árvores do Sul do Amazonas: guia de espécies de interesse econômico e ecológico*. **IDESAM: Manaus**. 2014. 116 p.

CHATZISTATHIS, T.A.; PAPADAKIS, I.E.; THERIOS, I.N.; GIANNAKOULA, A.; DIMASSI, K. 2011. Is chlorophyll fluorescence technique a useful tool to assess manganese deficiency and toxicity stress in olive plants? **Journal of Plant Nutrition**, 34:98–114.

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; JIANG, H.X.; YANG, L.T.; YANG, G.H. 2010. Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. **African Journal of Biotechnology**, 9 (54): 9237-9247.

CHEN, N.; ZHOU, F.; YIN, C.; STRASSER, R.J.; YANG, C.; QIANG, S. 2011. Application of fast chlorophyll a fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid. **Environmental and Experimental Botany**, 73: 31-41.

DESOTGIU, R.; POLLASTRINI, M.; CASCIO, C.; GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTI, F. 2012. Chlorophyll a fluorescence analysis along a vertical gradient of the crown in a poplar (Oxford clone) subjected to ozone and water stress. **Tree physiology**, 32: 976-986.

DUCIC, T.; POLLE, A. 2005. Transport and detoxication of manganese and copper in plants. **Braz. J. Physiol.**, 17 (1): 103-112.

FERNANDO, D.R.; LYNCH, J.P. 2015. Manganese phytotoxicity: new light on an old problem. **Annals of Botany** 116: 313–319.

GILL, S.S., TUTEJA, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48, 909–930.

HALL, J.S.; LOVE, B.E.; GAREN, E.J.; SLUSSER, J.L.; SALTONSTALL, K.; MATHIAS, S.; VAN BREUGEL, M.; IBARRA, D.; BORK, E.W.; SPANER, D.; WISHNIE, M.H.; ASHTON, M.S. 2011. Tree plantations on farms: Evaluating growth and potential for success. *Forest Ecology and Management* 261:1675-1683 doi:10.1016/j.foreco.2010.09.042

HOCH, L.; POKORNY, B.; JONG, W. 2009. How successful is tree growing for smallholders in the Amazon? **International Forestry Review**.

HORST, W.J.; WANG, Y.; ETICHA, D. 2010. The role of the root apoplast in aluminium induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of Botany**, 106: 185-197.

HUANG Y. L. et al. 2016. Manganese Toxicity in Sugarcane Plantlets Grown on Acidic Soils of Southern China. **Plos One**, 11(3): 1-18.

KEEFE, K.; ALAVALAPATI, J.A.A.; PINHEIRO, C. 2012. Is enrichment planting worth its costs? A financial cost-benefit analysis. **Forest Policy and Economics**, 23: 10-16.

KOCHIAN, L.V.; PIÑEROS, M.A.; LIU, J.; MAGALHAES, J.V. 2015. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annu. Rev. Plant Biol.** 66, 571–598.

LAVRES-JUNIOR et al. 2010. Changes in the ultrastructure of soybean cultivars in response to manganese supply in solution culture. **Sci. Agric.**, 67 (3): 287-294.

LEHMANN, S.; FUNCK, D.; SZABADOS, L. DORIS. 2010. Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**, 39:949–962.

LIU, Z.J.; FEI, B.H.; JIANG, Z.H.; CAI, Z.Y. LIU, X.E. 2014. Important properties of bamboliuo pellets to be used as commercial solid fuel in China. **Wood SciTechnol**, 48, 903–917.

MA, J.F. 2005. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 24: 267-281.

MARANHO, Á.S.; PAIVA, A.V. DE; PAULA, S.R.P. 2013. Crescimento inicial de espécies nativas com potencial madeireiro na Amazônia, Brasil. **Revista Árvore**, 37 (5): 913–921.

MARSCHNER, H. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3. ed. London: Academic Press, 2012.

MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; ALBERDI, M.; IVANOV, A.G.; KROL, M.; HÜNER, N.P.A. 2013. Excess manganese differentially inhibits photosystem I versus II in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, 64 (1): 343–354.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N.K. 2009. Soil Chemical Attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 40 (17-18): 2912-2925.

NOGUEIRA et al. 2020. Chemical Compounds and Biologic Activities: A Review of *Cedrela* Genus. **Molecules**, 25: 5401.

PAN, G.; LIUA, W.; ZHANGA, H.; LIU, P. 2018. Morphophysiological responses and tolerance mechanisms of *Xanthium strumarium* to manganese stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 165: 654–661.

PLATH, M. et al. 2011. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed species plantations: small-scale effects on tree performance and insect herbivory. **Forest Ecology and Management**, 261: 741-750.

QUESADA, C. A.; LLOYD, J.; ANDERSON, L. O.; FYLLAS, N. M.; SCHWARZ, M.; CZIMCZIK, C. I. 2011. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. **Biogeosciences**, 8 (6): 1415.

REJEB, K.B.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, 80: 278 - 284.

RENÓ, N. B. et al. 1997. Limitações nutricionais ao crescimento inicial de quatro espécies arbóreas nativas em Latossolo Vermelho-Amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32 (1): 17-25.

SADE, H.; MERIGA, B.; SURAPU, V.; GADI, J.; SUNITA, M.S.L.; SURAVAJHALA, P.; KAVI KISHOR, P.B. 2016. Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. **Biomaterials**, 29: 187-210.

SANCHES, M.C.; MARZINEK, J; BRAGIOLA, N.G.; NASCIMENTO, A.R.T. 2017. Morpho-physiological responses in *Cedrela fissilis* Vell. Submitted to changes in natural light conditions: implications for biomass accumulation. **Trees**, 31: 215–227.

SANTOS, E. F. et al. 2017. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, 113: 6-19.

SCHULZE, M. 2008. Technical and financial analysis of enrichment planting in logging gaps as a potential component of forest management in the eastern Amazon. **Forest Ecology and Management**, 255: 866-879.

SCHWERTMANN, U.; HERBILLON, A.J. **Some aspects of fertility associated with the mineralogy of highly weathered tropical soils**. In: LAL, R.; SANCHEZ, P. Myths and science of soils of the tropics. Madison, Soil Science Society America, 1992. p.47- 59. (Special Publ. n.29).

SIEPRAWKA, A.; FILEK, M.; TOBIASZ, A.; WALAS, S.; ADAMSKA, D.D.; GRYGO-SZYMANKO, E. 2016. Trace elements' uptake and antioxidant response to excess of manganese in in vitro cells of sensitive and tolerant wheat. **Acta Physiol Plant**, 38:55.

SINGH, S.; TRIPATHIB, D.K.; SINGHA, S.; SHARMAC, S.; DUBEYB, N.K.; CHAUHANA, D.K.; VACULÍKE, M. 2017. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. **Environmental and Experimental Botany**, 137: 177–193.

VILLAGRA, J.G. et al. 2021. Differential mechanisms between traditionally established and new highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars reveal new insights into manganese toxicity resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, 158: 454–465.

WEBB, M.J.; REDDELL, P.; HAMBLETON, A.; ROBSON, K. 2000. Growth response of four tropical plantation timber species to increasing phosphorus supply and assessment of phosphorus requirements using foliar analysis. *New Forests* 20:193-211 doi: 10.1023/A:1006756105284

YAO, Y.; XU, G.; MOU, D.; WANG, J.; MA, J. 2012. Subcellular Mn compartation, anatomic and biochemical changes of two grape varieties in response to excess manganese. ***Chemosphere***, 89: 150–157.

ZEUGIN, F.; POTVIN, C.; JANSA, J.; SCHERER-LORENZEN, M. 2010. Is tree diversity an important driver for phosphorus and nitrogen acquisition of a young tropical plantation? ***Forest Ecology and Management***, 260: 1424-1433.

SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO

Manaus

2021

CAPÍTULO 1: SENSIBILIDADE DO CEDRO AO ESTRESSE POR ALUMÍNIO

RESUMO

A toxicidade de Al é um dos principais limitantes para o crescimento das plantas em solos ácidos. O objetivo deste estudo foi investigar como o Al influencia o estado nutricional e desenvolvimento inicial do cedro. Nós cultivamos mudas com 90 dias de idade sob o efeito de cinco concentrações de Al (0; 125; 250; 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, por 25 dias. Observamos que o aumento das doses de Al reduziu a absorção e o acúmulo de nutrientes, produção de massa seca das raízes e parte aérea, índices de fluorescência e índice de clorofila. Por outro lado, notamos o aumento na concentração de prolina nas raízes e na parte aérea. Diante disso, concluímos que o crescimento das mudas de cedro é inibido pelas doses de Al, variando entre 38 e 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Palavras chave: estresse abiótico, *Cedrela fissilis*, acidez do solo, estresse mineral

ABSTRACT

Al toxicity is one of the main limiting factors for plant growth in acidic soils. The aim of this study was to investigate how Al influences the nutritional status and early development of cedar. We cultivated 90 days of age seedlings under the effect of five Al concentrations (0; 125; 250; 500 and 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in a completely randomized design, for with five replications, for 25 days. We observed that increasing Al doses reduced nutrient absorption and accumulation, root and shoot dry mass production, fluorescence index and chlorophyll index. On the other hand, we noticed an increase in the concentration of proline in the roots and shoot. Therefore, we conclude that the growth of cedar seedlings is inhibited by Al doses, ranging between 38 and 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al.

Keywords: abiotic stress, *Cedrela fissilis*, soil acidity, mineral stress.

1. INTRODUÇÃO

O alumínio (Al) encontra-se no solo, principalmente, na forma de óxidos e aluminossilicatos, sendo essas formas não tóxicas às plantas (MA, 2005). Porém, dependendo do pH, diferentes formas de Al podem ser encontradas, sendo algumas fitotóxicas (AGGARWAL et al., 2015). Em solos fortemente ácidos predomina as formas tóxicas de Al (CHEN et al., 2012).

Em muitos solos de terra firme da região central da Amazônia, o pH varia entre 3,9 e 4,4 (MOREIRA e FAGERIA, 2009). Nessas condições, tende a predominar o íon de Al hexahidrato octaédrico $[Al(H_2O)_6]^{3+}$, geralmente citado como Al^{3+} (AGGARWAL et al., 2015; SADE et al., 2016). No ambiente de terra firme do estado do Amazonas, predominam as classes Argissolos (45%) e Latossolos (26%), solos fortemente ácidos (MAIA e MARMOS, 2010), logo, a grande maioria das atividades agrícolas e silviculturais na região são desenvolvidas sobre esses solos.

A forma Al^{3+} é a que apresenta maior efeito negativo no crescimento das plantas, mesmo em concentrações baixas (micromolares) (HARIDASAN, 2008). Diante disso, o Al é considerado um dos fatores abióticos mais limitante para o cultivo das plantas em solos tropicais e subtropicais (FAGERIA e BALIGAR, 2008; CHEN et al., 2012) e, dependendo da espécie, pode causar perdas de até 80% na produção (MA, 2005; SADE et al., 2016). No entanto, o efeito tóxico do Al sobre o crescimento de plantas é dependente da concentração de Al^{3+} no substrato de cultivo, do tempo de exposição, da idade fisiológica, da espécie de planta e até mesmo do genótipo dentro da espécie (BOJÓRQUEZ-QUINTAL et al., 2017).

O Al^{3+} tem forte afinidade por ligantes doadores de oxigênio como proteína, ácidos nucleicos e fosfolipídios (NAVASCUÉS, 2012). Consequentemente, o Al^{3+} tende a ligar-se no simplasto, DNA, parede celular e na face apoplástica da membrana plasmática da célula da ponta da raiz (HORST et al., 2010; SINGH et al., 2017). Como resultado, as raízes tornam-se atrofiadas e frágeis, com baixa formação de pelos radiculares e com o ápice das raízes espesso e danificado (HORST et al., 2010; SADE et al., 2016). Isto afeta negativamente a absorção e transporte de água e de nutrientes minerais como nitrogênio ($N-NH_4^+$), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu) (MA, 2005; SADE et al., 2016; BOJÓRQUEZ-QUINTAL, et al., 2017), e o uso da água nas plantas.

O estresse de Al também pode provocar aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO's), o que pode causar danos oxidativos aos componentes celulares se as defesas antioxidantes estiverem sobrecarregadas (GILL e TUTEJA, 2010; REJEB et al., 2014). No entanto, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa antioxidantes não enzimáticos, como a produção de prolina (REJEB et al., 2014). Este aminoácido extingue os radicais livres para evitar ou minimizar o estresse oxidativo destrutivo (GILL e TUTEJA, 2010). A prolina contribui para o equilíbrio redox da célula (REJEB et al., 2014), protege as estruturas de proteínas contra a desnaturação, estabiliza as membranas celulares interagindo com fosfolipídios, captura e remove radicais livres como radicais de hidroxila (LEHMANN et al., 2010; REJEB et al., 2014).

A toxicidade do Al também altera o fotossistema (PSII), a estrutura dos cloroplastos, a cadeia transportadora de elétrons e a eficiência quântica máxima (F_v/F_m) (CHEN et al., 2005; JIANG et al., 2009; CHEN et al., 2010; SILVA et al., 2012). A observação da fluorescência permite a avaliação da condição fisiológica do PSII e dos componentes da cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos (KALAJI et al., 2016).

A eficiência da atividade fotossintética das plantas está relacionada com o teor de clorofila nas folhas (JESUS e MARENCO, 2008). As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura de luz usada na fotossíntese, que converte energia luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (DANIEL et al., 2016). O teor de clorofila nas folhas é influenciado por diversos fatores abióticos. O Al pode diminuir o teor de clorofila em decorrência da menor captação de energia luminosa, perturbando o processo de fotossíntese (JESUS e MARENCO, 2008; TAIZ e ZEIGER, 2013; SINGH et al., 2017).

De modo geral, os dados disponíveis sobre os efeitos isolados do Al no crescimento das plantas são escassos e relacionados, principalmente, às espécies agronômicas (JIANG et al., 2009; YANG et al., 2011). Apesar da escassez de estudos envolvendo espécies florestais arbóreas do trópico úmido há relatos de efeitos negativos na morfologia da parte aérea de *Cedrela Odorata* L. (Meliaceae) e *Tabebuia chrysantha* (Jacq.) G. Nicholson (Bignoniaceae), quando expostas a concentrações iguais ou maiores que $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Al (Rehmus et al. 2014; 2015). Nestes casos, as concentrações foliares de Al, tanto em *Cedrela odorata* quanto em *Tabebuia chrysantha*, foram muito baixas (menor que 1mg kg^{-1}) sugerindo que estas espécies são intolerantes ao Al.

O cedro é uma das espécies tropicais de grande importância econômica para o Brasil, a qual tem dominado o mercado nacional e internacional de madeira serrada de alta qualidade (HOCH et al., 2009; SANCHES et al., 2017), alcançando elevados preços (RUSSEL et al., 1993). Por outro lado, esse aumento da demanda por produtos madeireiros (ZEUGIN et al., 2010) tem exercido uma forte pressão sobre as florestas naturais nos trópicos (PLATH et al., 2011), reduzindo as populações nativas em recentes décadas (HOCH et al., 2009; ZEUGIN et al., 2010).

Diante disso, esforços devem ser direcionados ao estabelecimento dessas espécies em programas de enriquecimento de florestas ou mesmo em plantios puros (SCHULZE et al., 2008; HOCH et al., 2009; KEEFE et al., 2012), visando o fornecimento sustentável de madeira serrada de alta qualidade (LIU et al., 2014). No entanto, vários fatores têm dificultado o sucesso da silvicultura dessas espécies (PLATH et al., 2011), principalmente a falta da compreensão do requerimento ecofisiológico dessas espécies arbóreas. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a influência de concentrações de Al no estado nutricional e desenvolvimento inicial do cedro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições de crescimento

O estudo foi conduzido no Departamento de Engenharia Agrícola e Solos/Faculdade de Ciências Agrárias, na Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. O cultivo das plantas foi realizado em casa de vegetação com condições ambientais semicontroladas: luz natural, temperatura média de 34,29 °C, umidade relativa do ar de 63% e de densidade de fluxo de fóton fotossintético 612,3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.2. Tratamento e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos por cinco concentrações de Al (0; 125; 250; 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Utilizamos uma planta por unidade experimental, totalizando 25 plantas. Os níveis de Al estão fundamentados em resultados experimentais de Silva et al. (2004) e Rehmus et al. (2014).

2.3. Procedimentos específicos

Preparo do substrato e recipiente: utilizamos como substrato, areia grossa de rio passada em peneira com malha entre 0,05 e 2 mm de diâmetro, lavada em água de torneira até que a água drenada ficasse incolor. Em seguida, a areia ficou submersa em uma solução de HCl 0,5 mol L⁻¹ por 24 horas. Posteriormente aplicou-se sucessivas lavagens da areia com água de torneira. Finalmente, foi lavada com água deionizada, até que água drenada apresentasse condutividade elétrica (CE) ≤ 3 μS/cm, sendo, posteriormente, seca sob condições naturais. O substrato seco foi acondicionado em vasos plásticos de polietileno com capacidade volumétrica de 3,5 dm³, com poro de drenagem controlado. Os vasos foram pintados externamente com tinta spray para alta temperatura para reduzir a absorção de luz e aquecimento do substrato e solução nutritiva.

Obtenção de mudas: sementes de cedro, oriundas de 10 matrizes, foram beneficiadas e desinfestadas externamente com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos e posteriormente lavadas com água de torneira e água deionizada. Em seguida, foram colocadas para germinar em areia de rio lavada e desinfestada com hipoclorito de sódio 0,3%. Utilizamos como recipientes, bandejas plásticas com dimensões de 60 x 40 x 10 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente. O substrato recebeu irrigação diária com aproximadamente 200 mL de água deionizada, e a cada quatro dias foi fornecido 200 mL de solução de CaCl₂ a 0,1 mmol L⁻¹, até 30 dias após a germinação (DAG).

Pré-cultivo: plântulas com 30 DAG foram selecionadas quanto à uniformidade e transplantadas nos recipientes, onde foram pré-cultivadas por 60 dias. Nessa fase foi fornecida uma adubação básica na forma de solução nutritiva com força iônica equivalente a 1/10 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950), sendo constituída de 1,4 mmol de N-NO₃⁻ (NH₄NO₃); 0,19 mmol de N-NH₄⁺ ((NH₄)₂SO₄); 0,6 mmol de K (K₂SO₄); 0,4 mmol de Ca (Ca(NO₃)₂); 0,2 mmol de Mg ((MgNO₃)₂·6H₂O); 0,1 mmol de P (KH₂PO₄); 0,2 mmol S (K₂SO₄); 5,0 μmol de Cl (NaCl₂·2H₂O); 3,20 μmol de Fe (Fe-EDTA); 0,91 μmol de Mn (MnSO₄·H₂O); 0,08 μmol de Zn (ZnSO₄·7H₂O); 4,63 μmol de B (H₃BO₃); 0,03 μmol de Cu (CuSO₄·5H₂O); 0,01 μmol de Mo ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O). O pH da solução de pré-cultivo foi ajustado para 5,8, utilizando NaOH e/ou HCl, ambos 0,2 mol L⁻¹.

Aplicação dos tratamentos e cultivo: após a fase de pré-cultivo, as plantas receberam os tratamentos utilizando como fonte de Al o sulfato de alumínio (Al₂(SO₄)₃). Nessa mesma

época, foi fornecida uma adubação básica com força iônica equivalente a 1/5 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950). A concentração de P foi reduzida a $0,0048 \text{ mmol L}^{-1}$ para evitar a precipitação deste nutriente com o Al. O pH da solução de cultivo foi ajustado para 4,0, utilizando NaOH ou HCl, ambos na concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Fornecimento dos nutrientes e troca de soluções: tanto na fase de pré-cultivo quanto de cultivo, os nutrientes foram fornecidos a cada três dias com aproximadamente 50 ml de solução nutritiva por vaso, nos demais dias foram fornecidos 50 mL de água deionizada (pH =5,8 no pré-cultivo e pH=4,0 na fase de cultivo). A saturação do substrato no recipiente foi mantida em torno de 65% da capacidade de saturação total ($\approx 580 \text{ mL}$ de solução), visando evitar estresse por anoxia. A renovação da solução ocorreu a cada 15 dias na fase de pré-cultivo e, a cada sete dias na fase de cultivo, visando a dessalinização do substrato. A substituição iniciou-se com o monitoramento da CE da solução nutritiva, seguida pelo fornecimento de água deionizada ao substrato, até que a água drenada dos vasos apresentasse $CE < 3 \mu\text{S/cm}$ e, em seguida, foi adicionada a nova solução de cultivo.

2.4. Avaliação do experimento

O efeito das concentrações de Al nas plantas foi mensurado pela variação dos parâmetros fotossintéticos, taxa de crescimento relativo da parte aérea (TCR) e absoluto das raízes (TCA), produção de massa seca, teor de prolina e estado nutricional das plantas, 25 dias após contato das plantas com os tratamentos.

Fluorescência da clorofila a: realizamos a medição no segundo folíolo da terceira folha, a partir do ápice da planta, no período da manhã (10h às 11h). Antes da medição, as folhas de cedro selecionadas para análise foram adaptadas ao escuro por 30 minutos, usando cliques de plástico especiais, para iniciar todos os centros de reação para abrir e minimizar os processos fisiológicos associados à energização da membrana dos tilacóides. Após a adaptação das folhas ao escuro, a face adaxial da folha foi então exposta a um pulso de excitação de 5 s de alta irradiância ($3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) com um comprimento de onda de 650 nm. Em seguida, foi determinada a fluorescência mínima (F_0), máxima (F_m) e variável (F_v), utilizando um fluorômetro portátil (PEA, MK2 - 9600 - Hansatech, Norfolk, UK). Os dados obtidos foram analisados pelo teste JIP (STRASSER et al., 2010), e usados para calcular o rendimento quântico máximo da fotoquímica do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m), comportamento do PSII por meio do índice de desempenho com base na absorção (PI_{abs}) e índice de desempenho total com base na absorção (PI_{total}).

Índice de clorofila relativo (ICR): medimos o ICR nas mesmas folhas utilizadas para avaliar a fluorescência da clorofila a, utilizando um medidor de clorofila portátil (SPAD-502). As leituras de ICR foram realizadas no ponto médio do folíolo, no espaço entre as principais nervuras. As medições foram feitas entre 10h e 14h, em duas repetições. Portanto, o valor de ICR corresponde à média de duas leituras obtidas em cada unidade experimental.

Taxa de crescimento relativo: a altura da parte aérea (ALT), medimos desde a base do coleto até a gema apical da planta, com o auxílio de uma régua graduada em cm, e o diâmetro do coleto (DC), medimos com um paquímetro digital (King Tools 0 - 200 mm), a 0,5 cm da superfície da areia. Essas medidas foram feitas antes e após a fase de cultivo das plantas. Após a retirada das plantas do substrato, mensuramos o comprimento das raízes (CR) com o auxílio de uma régua graduada em cm. De posse dos dados de ALT e DC, foram obtidas as taxas de crescimento relativo (TCR), e com os dados de CR, foi obtida a taxa de crescimento absoluto (TCA) (BUGBEE, 1996; DAVANSO et al., 2002).

Produção de massa seca: após a retirada das plantas do substrato, estas foram compartimentalizadas em parte aérea (folha + caule + pecíolos) e raízes. Em seguida, foram lavadas em água deionizada e secas em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura de 65°C até atingirem massa constante. Após a secagem, foi determinada a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e massa seca total (MST) ($MST = MSPA + MSR$), utilizando-se balança com precisão de 0,001 g. A partir dos dados de massa seca foram calculadas razão das raiz/parte aérea (RRPA), razão de massa seca de raízes (RMR) e razão massa seca da parte aérea (RMPA) (DICKSON et al., 1960).

Teor de prolina: determinamos na MSPA e MSR, conforme Bates, Waldren e Teare (1973), com adaptação de Leite, Virgens Filho e Rodrigues (2000). As amostras foram maceradas e homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfossalicílico 3% (p/v). Em seguida a mistura foi transferida para tubos de microcentrífuga (15 mL) e centrifugada a 6000 rpm por 30 min. Foram coletados 2 mL do sobrenadante e transferidos para tubos de microcentrífuga, onde foram acrescentados 2 mL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial concentrado). Posteriormente, os tubos, hermeticamente fechados, foram levados ao banho-maria a 100°C durante 1 hora. Logo após, os tubos foram colocados em recipientes contendo gelo para finalizar a reação. Em seguida, cada tubo recebeu 4 mL de tolueno e foram agitados por 15 a 20 segundos. Os tubos foram deixados em repouso até a mistura formar duas fases, posteriormente o

sobrenadante foi transferido para um microtubo. A leitura destas amostras foi feita em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando-se o tolueno como branco. A concentração de prolina foi estimada com o auxílio de reta padrão previamente estabelecida.

Sintomatologia, teor e acúmulo de nutrientes e Al nas raízes: ao final do experimento, os sintomas do estado nutricional das plantas foram caracterizados, descritos e fotografados (Câmera/Canon - T7i). Complementarmente, a MSR foi moída em moinho tipo Willey para serem analisadas quimicamente quanto ao teor total de nitrogênio (N), K, Ca, Mg, P, enxofre (S), Fe, manganês (Mn), Zn, boro (B), Cu e Al, conforme (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). O acúmulo de nutrientes (AN) nas raízes das plantas foi calculado conforme a equação: $AN (g \text{ ou } mg \text{ planta}^{-1}) = \text{concentração de nutrientes (g ou } mg \text{ kg}^{-1}) \times MSR (g)$.

2.5. Análise de dados

Os resultados obtidos foram previamente submetidos à detecção de *outliers* e aos testes de normalidade (SHAPIRO e WILK, 1965) e homogeneidade de variâncias (LEVENE, 1960). Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,01$ e $P < 0,05$). Quando o F foi significativo, as médias das variáveis dependentes: TCA_{raiz} , MSPA, MSR, MST, RMR, acúmulo de N, P, K, Ca, Mg, Zn, Fe e Al, PI_{abs} , PI_{total} , IRC e concentração de prolina foram ajustadas a modelos matemáticos de regressão polinomial de primeiro e segundo grau. Os critérios para escolha dos modelos de regressão foram o maior coeficiente de determinação e a significância do modelo. A partir das equações de comportamento quadrático foram estimados os níveis críticos de toxidez de Al ($\mu\text{mol L}^{-1}$) no substrato, correspondente à dose que promoveu uma redução de 10% no valor da variável resposta em relação a dose zero de Al.

3. RESULTADOS

3.1. Teor, sintomatologia e acúmulo de Al e nutrientes nas plantas

As doses de alumínio influenciaram significativamente ($P < 0,01$) os teores de Al (Figura 1), mas não afetaram significativamente os teores de nutrientes nas raízes (dados não apresentados).

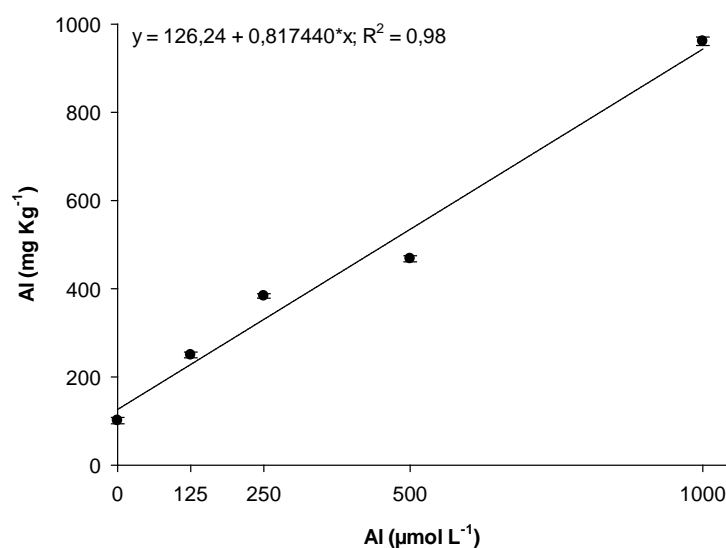


Figura 1. Efeito de diferentes níveis de Al sobre o teor de alumínio (Al) nas raízes de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * $P < 0,01$.

Os teores de Al nas raízes das plantas aumentaram linearmente em função do incremento das concentrações deste elemento no substrato de cultivo. Os teores variaram de 92 a 972,5 mg kg⁻¹, apresentando maior teor radicular na concentração de 1000 µmol L⁻¹ de Al.

Até o momento, não há parâmetros de referências para concentrações de nutrientes na massa seca das raízes de *Cedrela fissilis*, em plantas com idades semelhantes ao presente estudo. Por isso, nós comparamos os nossos dados com os parâmetros de *Cedrela fissilis* cultivadas por sete meses em um Latossolo Vermelho de textura média (FREIBERGER et al., 2013) e *Cedrela odorata* cultivadas em solução nutritiva durante seis semanas (REHMUS et al., 2015).

No presente estudo, nós observamos que a faixa de concentração radicular de N (10,1 - 12 g kg⁻¹), K (11,3 - 18,2 g kg⁻¹), Ca (2,0 - 3,2 g kg⁻¹), Mg (1,0 - 1,6 g kg⁻¹), P (0,6 - 1,4 g kg⁻¹), S (1,0 - 1,9 g kg⁻¹), Fe (82,9 - 179,3 mg kg⁻¹) e Cu (3,0 - 5,1 mg kg⁻¹) permaneceram abaixo da faixa considerada adequada para melhor crescimento inicial dessa espécie (REHMUS et al., 2015), mesmo no tratamento sem Al. Os teores de Mn (15,0 - 36,6 mg kg⁻¹) também permaneceram abaixo da faixa considerada adequada para melhor crescimento (FREIBERGER et al., 2013). Os teores foliares de Zn, no tratamento com 0 µmol L⁻¹ de Al, ficou abaixo da faixa adequada para o bom desenvolvimento das plantas (REHMUS et al., 2015). Por outro lado, nos demais tratamentos, o teor de Zn (111,1 a 201,6 mg kg⁻¹) permaneceu acima da faixa adequada (REHMUS et al., 2015).

Em relação aos teores foliares de B (12,5 - 25,3 mg kg⁻¹), observamos que os tratamentos 0, 125 e 500 µmol L⁻¹ apresentaram 12,5, 15,9 e 20,5 mg kg⁻¹ de B, respectivamente, ficaram abaixo da faixa ideal para o bom crescimento das plantas (FREIBERGER et al., 2013). No caso das doses 250 e 1000 µmol L⁻¹ de Al, notamos concentrações de 25,3 e 27,8 mg kg⁻¹ de B, respectivamente, que ficaram acima da faixa considerada adequada para o bom desenvolvimento das plantas (FREIBERGER et al., 2013).

Observamos sintomas visuais de toxicidade após 25 dias de exposição das plantas aos níveis de Al (Figura 2), como diminuição do crescimento das raízes, baixa formação de pelos radiculares e redução na expansão foliar. Os sintomas mais intensos foram observados nas doses de 250, 500 e 1000 µmol L⁻¹ de Al e os teores de Al radiculares foram 383,7; 468 e 961,2 mg kg⁻¹, respectivamente. As raízes e a parte aérea das plantas cresceram mais na ausência de Al (Figura 2).

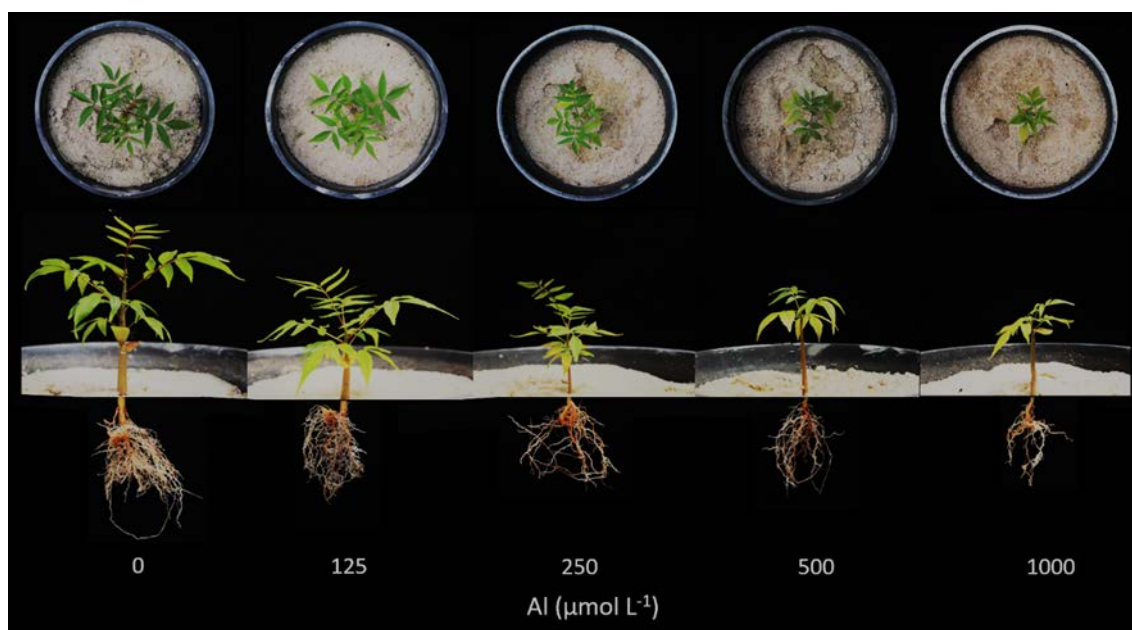


Figura 2. Ilustração do efeito das concentrações de Al sobre mudas de *Cedrela fissilis*. Plantas cultivadas nas maiores doses de Al apresentam menor crescimento vertical e volume de raízes, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos.

As doses de Al influenciaram significativamente o acúmulo radicular do Al, N, Ca, Mg, P, ($P < 0,01$), K, Fe e Zn ($P < 0,05$) (Figura 3), mas não influenciaram o acúmulo de S, Mn, B e Cu (dados não apresentados).

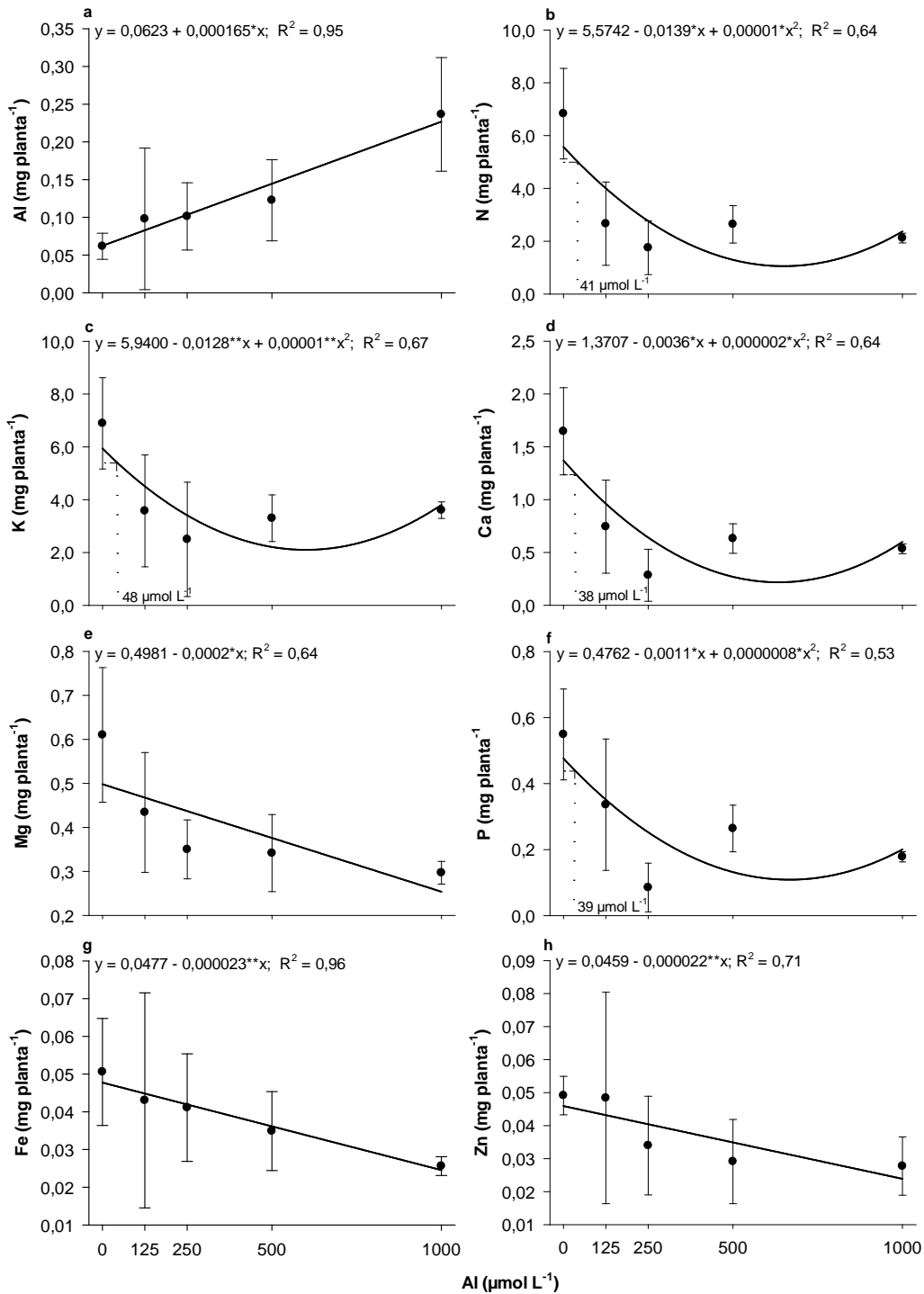


Figura 3. Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o acúmulo de nitrogênio (N) (a), potássio (K) (b), fósforo (P) (c), cálcio (Ca) (d), magnésio (Mg) (e), zinco (Zn) (f), ferro (Fe) (g) e alumínio (Al) (h) nas raízes de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

Nós observamos que o acúmulo de Al nas raízes aumentou linearmente em função das concentrações deste elemento no substrato de cultivo. Por outro lado, o aumento das concentrações de Al reduziu o acúmulo dos nutrientes N, K, Ca, Mg, P, Fe e Zn (Figura

3) nas raízes das plantas. Os acúmulos de Mg, Fe e Zn ajustaram-se a um modelo matemático linear enquanto o N, K, Ca e P ajustaram-se a um modelo matemático quadrático positivo. Assim, para N, K, Ca e P, houve uma estabilização na redução do acúmulo destes elementos na dose de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, mas um leve aumento dos valores na concentração de 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Ao contrário do Al, a absorção dos nutrientes foi maior no tratamento controle. Nota-se que na primeira concentração de Al já ocorreu uma redução na absorção dos nutrientes em comparação ao tratamento sem o fornecimento de Al, sendo esta redução mais drástica na concentração de 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al para os elementos N, K, Ca e P (Figura 3b, c, d e f). Por outro lado, observamos uma menor absorção de Mg, Zn e Fe na dose 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, apresentando uma redução de 51,3; 43,5 e 49,4%, respectivamente, no tratamento sem Al (Figura 3e, g e h). Os níveis críticos de toxicidade de Al, que promoveram uma redução de 10% no acúmulo de N, K, Ca e P, corresponderam a 41, 48, 38 e 39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, respectivamente (Figura 3b, c, d e f).

3.2. Fluorescência da clorofila e índice relativo de clorofila SPAD

Os tratamentos influenciaram as variáveis F_v/F_m , ($P < 0,01$), PI_{abs} , PI_{total} e IRC ($P < 0,05$). O aumento da concentração de Al no substrato de cultivo proporcionou redução no valor destas variáveis, com exceção da variável F_v/F_m em que os dados ajustaram-se ao modelo matemático linear, as demais ajustaram-se a o modelo matemático de segundo grau positivo (Figura 4).

Houve uma redução nos valores de PI_{abs} , PI_{total} , F_v/F_m e o IRC de aproximadamente de 53, 60, 19 e 11%, respectivamente, na concentração de 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al em relação ao tratamento controle. Os níveis críticos de toxicidade de Al referentes as variáveis PI_{abs} , PI_{total} e o IRC corresponderam às concentrações de 75, 45 e 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, respectivamente (Figura 5a, b e d). Já o rendimento quântico máximo (F_v/F_m) ficou abaixo de 0,8 a partir da concentração de 125 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al.

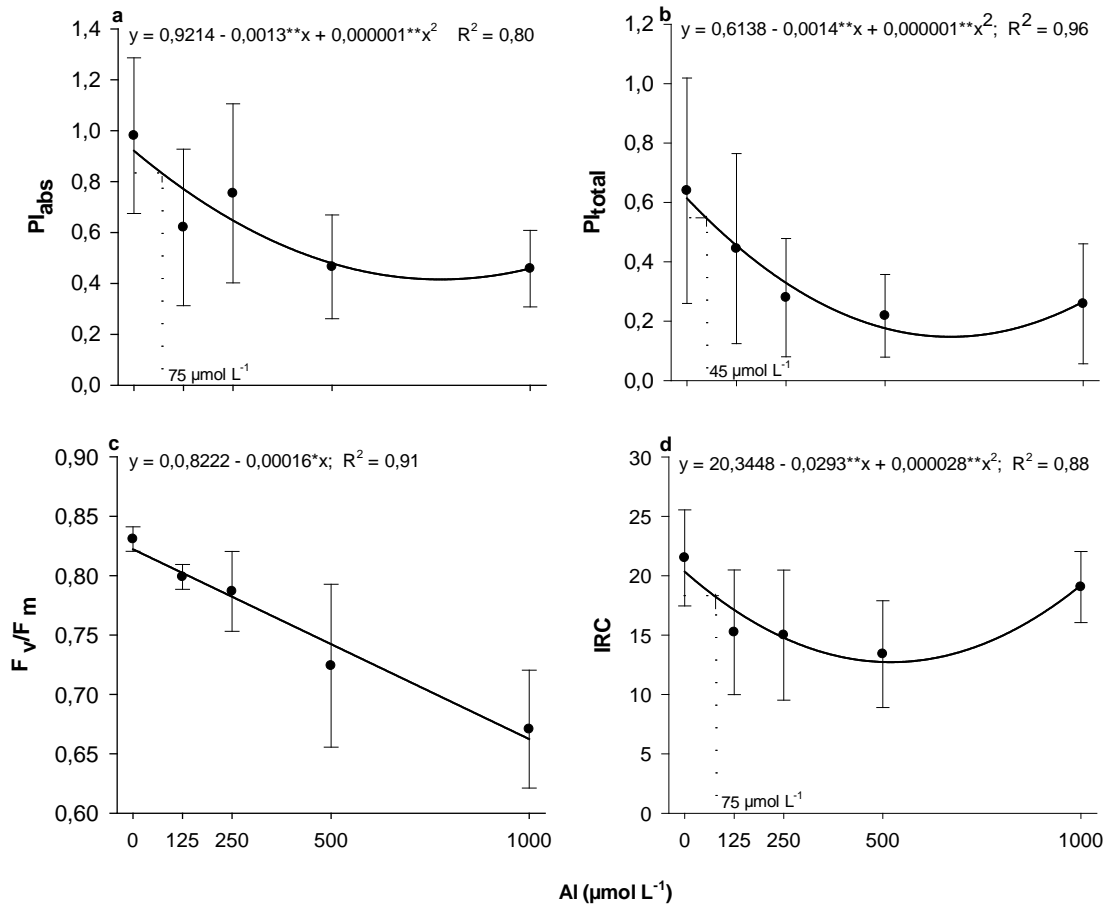


Figura 4. Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o índice de desempenho na base ABS (PI_{abs}) (a) índice de desempenho total (PI_{total}) (b), eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m) (c) e Índice relativo à clorofila (IRC) (d) nas folhas de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

3.3. Teor de prolina nas raízes e parte aérea

As concentrações de Al influenciaram ($P < 0,01$) a concentração de prolina nas raízes e na parte aérea das plantas. Houve aumento linear nos teores de prolina na planta com o aumento das concentrações de Al no substrato (Figura 5). Para cada unidade adicionada de Al ao substrato de cultivo, houve um aumento de $0,0175$ e $0,0057$ μmol de prolina g^{-1} MS de raízes e parte aérea, respectivamente.

A concentração de 1000 μmol de Al aumentou em 157% a concentração de prolina nas raízes e em 64% na parte aérea das plantas, em comparação ao tratamento sem o fornecimento de Al. O aumento no teor de prolina apresentou resposta inversa do acúmulo de nutrientes (Figura 3), das variáveis de fluorescência e IRC (Figura 4).

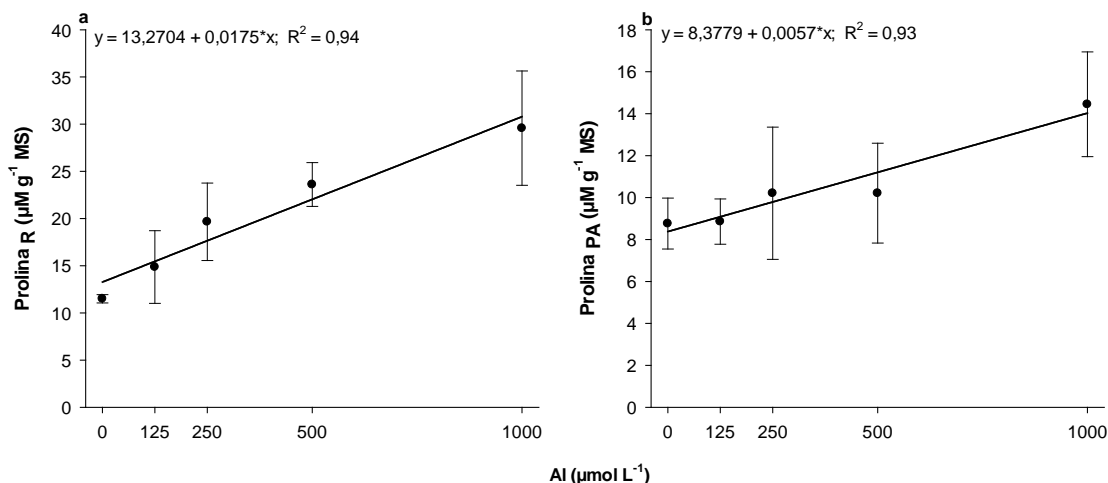


Figura 5. Efeito de diferentes concentrações de Al sobre o teor de prolina nas raízes (Prolina_R) (a) e parte aérea (Prolina_{PA}) (b) de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * $P < 0,01$.

3.4. Crescimento das plantas

As diferentes concentrações de Al influenciaram significativamente as variáveis de crescimento MSPA, MSR, MST, TCA_{raiz} ($P < 0,01$), RMR e RMPA ($P < 0,05$), mas não afetaram as variáveis ALT, DC e RRPA (dados não apresentados).

A elevação das concentrações de Al no substrato de cultivo reduziu os valores das variáveis de crescimento, exceto RMPA (Figura 6). As variáveis MSPA e TCA_{raiz} ajustaram-se ao modelo matemático linear (Figuras 6a, e) enquanto que MSR, MST e RMR ajustaram-se a um modelo matemático de segundo grau positivo (Figuras 5b, c, e) e RMPA negativo (Figura 6d). Os níveis críticos de toxicidade de Al referentes as variáveis MSR, MST, RMPA, RMR situaram em torno 48, 58, 89 e 226 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, respectivamente.

A dose de 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al proporcionou um decréscimo de 66, 71, 70 e 67% na produção de MSPA, MSR, MST e na TCA_{raiz}, respectivamente, em comparação ao tratamento sem Al. Já os valores de RMPA e RMR no tratamento controle foram semelhantes aos valores observados na dose de 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al. Esses resultados de biomassa e taxa de crescimento radicular corroboram com a redução dos teores e acúmulos de nutrientes e o aumento dos teores de prolina nas plantas.

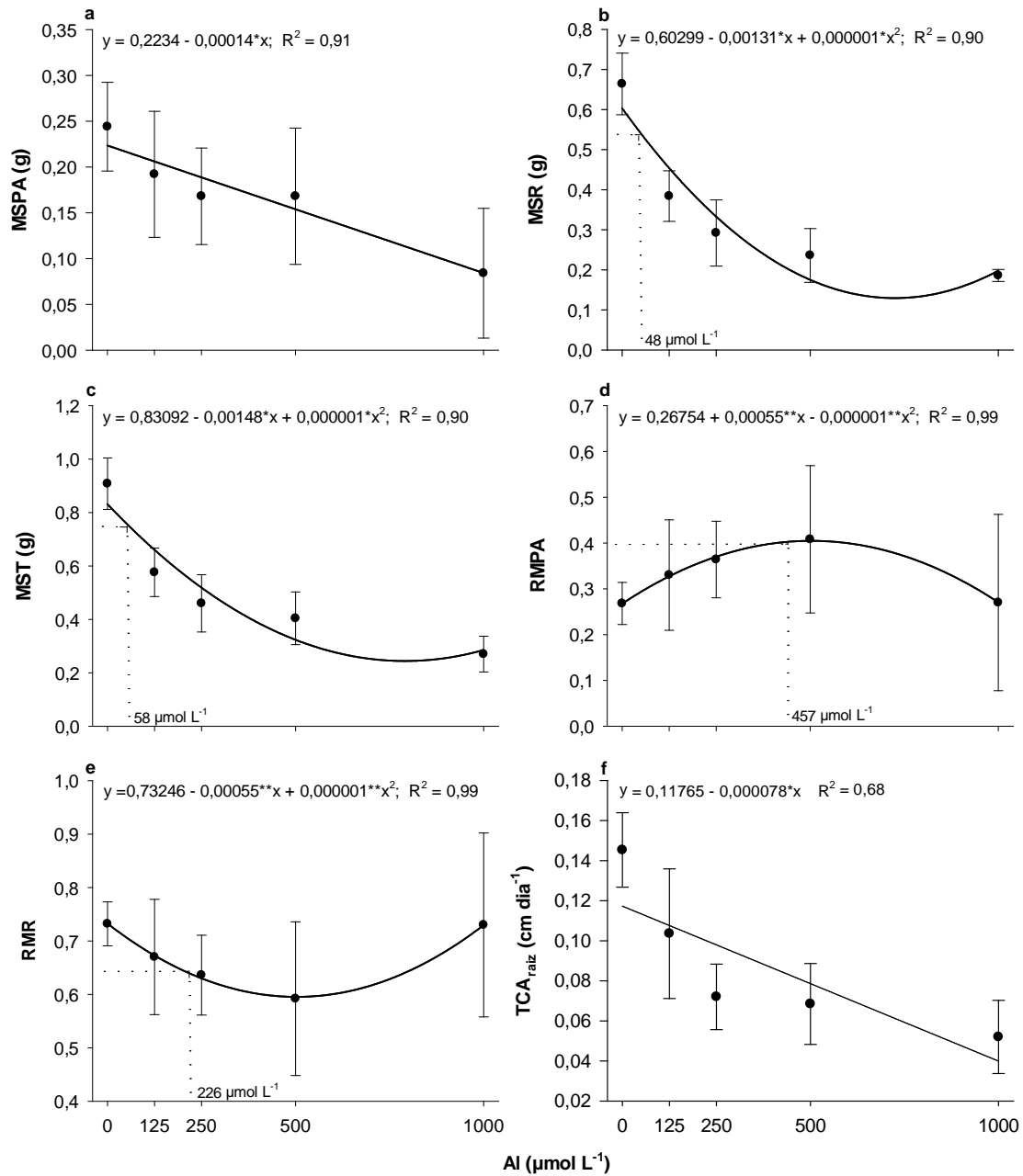


Figura 6. Efeito de diferentes concentrações de Al sobre a massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca de raízes (MSR) (b), massa seca total (MST) (c), razão de massa seca da parte aérea (RMPA) (d), razão de massa seca de raízes (RMR)(e) e taxa de crescimento absoluto das raízes (TCA_{raiz}) (f) de *Cedrela fissilis*, após 25 dias de contato das plantas com os tratamentos. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

O Al restringiu a absorção de nutrientes e, conseqüentemente, contribuiu para um menor crescimento de raízes e parte aérea do cedro. O efeito negativo do Al no crescimento das mudas de cedro foi observado, neste estudo, tanto visualmente (Figura

2) quanto pelas variáveis de crescimento (Figura 6). Além de diminuir a absorção e a translocação de nutrientes, o Al inibe também processos fisiológicos chaves nas plantas (REHMUS et al., 2015), como a alteração do fotossistema II (PSII) (SILVA et al., 2012).

A fitomassa seca das plantas foi comprometida pelas altas concentrações de Al, derivada por uma série de interferências nutricionais imposta pela restrição do crescimento das raízes, como a redução do acúmulo de nutrientes. A diminuição do crescimento do sistema radicular tem sido relatada como o efeito mais recorrente da toxidez de Al, onde ocorre o comprometimento no alongamento e divisão das células (BOJÓRQUEZ-QUINTAL et al., 2017), prejudicando a absorção de nutrientes, consequentemente, afetando o crescimento das plantas (SINGH et al., 2017; HE, LI e HE, 2019).

A diminuição do crescimento e produção de fitomassa pelo Al foi observada em vários outros estudos (REHMUS et al., 2015; FURLAN et al., 2018; HE, LI e HE, 2019). Em outros, foram observados deficiência nutricional (HE, LI e HE, 2019). Nos estudos com cedro vermelho japonês (*Cryptomeria japonica*) (HIRANO e HIJII 1998), pinheiro negro (*Pinus thunbergii*) (HIRANO et al., 2012), pinhão-manso (*Jatropha curcas*) (STEINER et al., 2012), pinheiro (*Pinus massoniana*) (ZHANG et al., 2014) e maricá (*Mimosa artemisiana*) (PRESOTTO et al., 2018), as quais foram submetidas ao excesso de alumínio, observou-se sintomas de toxidez de Al semelhantes aos observados no presente trabalho.

Maiores concentrações de Al reduziram a concentração e o acúmulo de nutrientes nas plantas. Estudos apontam que a ligação do Al com as paredes celulares e as interações com a membrana (ETICHA et al., 2005; AWASTHI et al., 2017) e também pela competição por sítio ativo dos canais específicos envolvidos no processo de absorção (MALAVOLTA; VITTI e OLIVEIRA, 1997) reduzem a absorção de alguns elementos como o Mg, Ca e K. A absorção de P reduziu, possivelmente, pela sua ligação com Al que forma aluminofosfatado, tornando o P menos disponível para a planta (BASSO et al., 2003).

No presente estudo, observamos sintomas visuais de toxidez de Al, sendo estes mais visíveis nas raízes. Estudos mostram que os primeiros danos da toxidez por Al são causados no apoplasto, onde o Al se liga às paredes da rizoderme e a parte externa do córtex radicular, enrijecendo e impedindo o processo de remodelação, essencial para o alongamento celular (KOPITTKKE et al., 2015; SADE et al., 2016; HE, LI e HE, 2019). O

acúmulo de Al na parede celular também reduz o movimento da água e solutos através do apoplasto e causa danos nas células do ápice radicular (ETICHA et al., 2005; AWASTHI et al., 2017). Portanto, os cátions da parede celular são praticamente substituídos por Al, ocasionando mudanças severas em suas propriedades estruturais e mecânicas (ZHANG et al. 2007).

A presença de Al também diminuiu os teores de clorofila, reduzindo assim, o potencial da folha em capturar e utilizar luz na fotossíntese, prejudicando a conversão de energia luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (AMARANTE et al., 2008; DANIEL et al., 2016). Esta resposta, provavelmente, está relacionada com o efeito do Al na redução de absorção de Mg e N, íons essenciais da molécula de clorofila (SCHADCHINA e DMITRIEVA 1995; MARSCHNER, 2012). Deficiência de Mg pode promover menor fotossíntese e inibir a produção de biomassa (REHMUS et al., 2015), assim como a deficiência de N, que afeta a estrutura e o funcionamento do aparato fotossintético (TAIZ e ZEIGER, 2013). Contudo, deve ser considerado, o efeito do excesso da degradação da clorofila provocada pelo Al (CUNHA NETO et al., 2020). O excesso desse elemento pode causar oxidação nos centros de reação da fotossíntese, dos pigmentos receptores de luz, que reagem com O₂, produzindo radicais livres, como superóxido (O₂⁻), o que pode destruir pigmentos do plastídio (ZHANG et al., 2018).

A influência negativa do Al no aparato fotossintético das plantas foi confirmada pelo decréscimo dos parâmetros da fluorescência da clorofila, PI_{total} , PI_{abs} e F_v/F_m , neste estudo. A avaliação desses parâmetros indica perda na capacidade das plantas em realizar as reações fotoquímicas (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008; CHEN et al., 2010).

A redução do potencial de conservação de energia dos fótons, observado pelos valores de PI_{abs} e o PI_{total} (Figura 4a e b), descrevem o comportamento geral da etapa fotoquímica da fotossíntese (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008; CHEN et al., 2011). Essa redução demonstra que a presença de Al resultou em menor eficiência da planta em utilizar a energia absorvida para a conversão em energia na forma de ATP e NADPH, que reflete as condições fisiológicas da planta, como o desenvolvimento e a sobrevivência em condições de estresse (YUSUF et al., 2010; DESOTGIU et al., 2012).

Os resultados mostram que o maior fornecimento de Al reduziu os valores de F_v/F_m a menos de 0,8, apontando que a integridade estrutural e funcional dos cloroplastos foi danificada (CHATZISTATHIS et al., 2010), indicando fotoinibição nas plantas, além

de prejuízos no transporte de elétrons na membrana dos tilacóides (CHEN et al., 2010). Desse modo, os centros de reação do PSII foram inativados ou danificados, diminuindo a eficiência de captura de energia por esses centros abertos (LONG et al., 1994; ELSHEERY e CAO, 2008). Com a transferência de energia prejudicada, houve menor rendimento do desempenho do fotossistema II (PI_{abs}) e menor eficiência na transferência de elétron, vindo dos carregadores de elétrons do intersistema, para reduzir os aceptores finais de elétrons no lado acceptor do FSI (CHEN et al., 2011), logo, diminuiu o índice de desempenho total (PI_{total}). A fotoinibição pode inibir o crescimento das plantas (YANG et al., 2008), já que resulta em ineficiência da planta em utilizar energia para os processos fisiológicos.

Observamos que as plantas cultivadas na presença de Al aumentaram a produção de prolina. Este é um recurso que as plantas utilizam para minimizar as influências negativas das condições estressantes a que estão expostas. Esse processo ocorre, geralmente, quando há um aumento de danos oxidativos, como a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) nas plantas (SCHUTZENDUBEL e POLLE, 2002; GILL e TUTEJA, 2010; LIU et al., 2014). As ERO's causam a peroxidação lipídica das células, perda de íons, a quebra da cadeia de DNA, reduzindo o alongamento celular (SCHUTZENDUBEL e POLLE, 2002; HE, LI e HE, 2019). A produção de prolina é um meio de reduzir o estresse oxidativo destrutivo, ajustando a osmose celular (GILL e TUTEJA, 2010; REJEB et al., 2014), protegendo as macromoléculas contra a desnaturação, estabilizando as membranas celulares e extinguindo os radicais livres (LEHMANN et al., 2010; REJEB et al., 2014).

Portanto, altas concentrações de Al resultaram em condições estressantes para as mudas de cedro, que levaram a diminuição do seu crescimento e fitomassa. Isso comprometeu o incremento das raízes, gerando menor absorção de nutrientes que prejudicou a fisiologia da planta, alterando assim, a eficiência da atividade fotossintética das plantas (CHEN et al., 2005; JIANG et al., 2009; CHEN et al., 2010; SILVA et al., 2012).

5. CONCLUSÕES

Observamos que as mudas de *Cedrela fissilis* são sensíveis ao Al. As concentrações de Al comprometem drasticamente o incremento das raízes gerando desequilíbrio nutricional, fisiológicos e sintomas visuais de toxicidade.

Consequentemente, inibe o crescimento das plantas. O nível crítico de toxicidade situa na faixa de 38 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, no substrato de cultivo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, A.; EZAKI, B.; MUNJAL, A.; TRIPATHI, B.N. **Physiology and biochemistry of aluminium toxicity and tolerance in crops**. In: Tripathi BN, Mueller M (eds) Stress responses in plants: mechanisms of toxicity and tolerance. Springer: Switzerland p. 35-57, 2015.

AMARANTE, C.V.T.; STEFFENS, C.A.; ZANARDI, O.Z.; ALVES, E.O. 2008. Quantificação de clorofilas em folhas de macieiras ‘Royal Gala’ e ‘fuji’ com métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30 (3): 590-595.

AWASTHI, J.P.; SAHA, B.; REGON, P.; SAHOO, S.; CHOWRA, U.; PRADHAN, A.; ROY, A.; PANDA, S.K. 2017. Morpho-physiological analysis of tolerance to aluminum toxicity in rice varieties of North East India. **Plant Physiology and Biochemistry**, 54: 105-112. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176357>

BASSO, L.H.M.; GONÇALVES, A.N.; SILVEIRA, L.V.A.; LIMA, G.P.P. 2003. Efeito do alumínio no crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* cultivadas in vitro. **Revista Scientia Forestalis**, 63: 167-177.

BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, 39 (1): 205-207.

BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; ESCALANTE-MAGAÑA, C.; ECHEVARRÍA-BORGO, L. 2017. Evaluation of buffers toxicity in tobacco cells: homopiperazine-1, 4-bis (2-ethanesulfonic acid) is a suitable buffer for plant cells studies at low pH. **Plant Physiology and Biochemistry**, 115: 119–125.

BUGBEE, B. G. Growth, analysis and yield components. In: SALISBURY, F.B. (Ed.). Units, symbols, and terminology for plant physiology. Oxford: Oxford University, 1996.

CHATZISTATHIS, T.A.; PAPADAKIS, I.E.; THERIOS, I.N.; GIANNAKOULA, A.; DIMASSI, K. 2010. Is chlorophyll fluorescence technique a useful tool to assess manganese deficiency and toxicity stress in olive plants? **Journal of Plant Nutrition**, 34 (1): 98-114. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2011.531362>

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; JIANG, H.X.; YANG, L.T.; YANG, G.H. 2010. Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. **African Journal of Biotechnology**, 9 (54): 9237-9247.

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; LIU, X.H. 2005. Effects of aluminum on light energy utilization and photoprotective systems in citrus leaves. **Ann. Bot.** 96: 35-41.

CHEN, N.; ZHOU, F.; YIN, C.; STRASSER, R.J.; YANG, C.; QIANG, S. 2011. Application of fast chlorophyll a fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid. **Environmental and Experimental Botany**, 73: 31-41.

CHEN, R.F.; ZHANG, F.L.; ZHANG, Q.M.; SUN, Q.B.; DONG, X.Y.; SHEN, R.F. 2012. Aluminium-phosphorus interactions in plants growing on acid soils: does phosphorus always alleviate aluminium toxicity? **Journal of the science of food and agriculture**, 92: 995–1000.

CUNHA NETO, A.R.; AMBRÓSIO, A.S.; WOŁOWSKI, M.; WESTIN, T.B.; GOVÊA, K.P.; CARVALHO, M.; BARBOSA, S. 2020. Negative effects on photosynthesis and chloroplast pigments exposed to lead and aluminum: a meta-analysis. **Cerne**, 26 (2): 232-237.

DANIEL, E.S.; AMARANTE, C.V.T.; MARTIN, M.S.; MIQUELLUTI, D.J. CAMPOS, M.L. 2016. Relação entre o teor absoluto e relativo de clorofila em folhas de viveiro. **Ciência Florestal**, 26 (1): 307-312.

DAVANSO, V.M.; SOUZA, L.A.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A.; BIANCHINI, E. 2002. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 45 (3).

DESOTGIU, R.; POLLASTRINI, M.; CASCIO, C.; GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTI, F. 2012. Chlorophyll a fluorescence analysis along a vertical gradient of the crown in a poplar (Oxford clone) subjected to ozone and water stress. **Tree physiology**, 32: 976-986.

DICKSON, A.; LEAF, A.L.; HOSNER, J.F. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, 36 (1): 10-13.

ELSHEERY, NI.; CAO, KF. 2008. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. **Acta Physiol Plant**, 30: 769–777.

ETICHA D. The C, Welcker C, Narro L, Staß A, Horst WJ (2005) Aluminum-induced callose formation in root apices: inheritance and selection trait for adaptation of tropical maize to acid soils. **Field Crops Res**, 93:252–263.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C. Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable crop production. In: SPARKS, D.L. (Ed.). *Advances in Agronomy*. Amsterdam: Elsevier, 2008. p.345-399.

FREIBERGER, M. B. et al. 2013. Crescimento inicial e nutrição de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) em função de doses de nitrogênio. **Revista Árvore**, 37 (3): 385–392.

FURLAN, F., BORGIO, L., RABÊLO, F.H.S., ROSSI, M.L., MARTINELLI, A.P., AZEVEDO, R.A., LAVRES, J., 2018. Aluminum-induced stress differently modifies Urochloa genotypes responses on growth and regrowth: root-to-shoot Al-translocation and oxidative stress. **Theor.Exp. Plant Physiol.**, 30, 141–152.

GILL, S.S., TUTEJA, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48, 909–930.

HARIDASAN, M. 2008. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal Plant Physiology**, 20 (3): 183- 195.

HE, H.; LI, Y.; HE, L.F. 2019. Aluminum toxicity and tolerance in Solanaceae plants. **South African Journal of Botany**, 123: 23–29.

HIRANO, Y.; FREY, B.; BRUNNER, I. 2012. Contrasting reactions of roots of two coniferous tree species to aluminum stress. **Environmental and Experimental Botany**, 77: 12– 18.

HIRANO, Y.; HIJII, N. 1998. Effects of low pH and aluminum on root morphology of Japanese red cedar saplings. **Environmental Pollution**, 101: 339-347.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. 1950. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: **California Agricultural Experimental Station**, 347.

HOCH, L.; POKORNY, B.; JONG, W. 2009. How successful is tree growing for smallholders in the Amazon? **International Forestry Review**.

HORST, W.J.; WANG, Y.; ETICHA, D. 2010. The role of the root apoplast in aluminium induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of Botany**, 106: 185-197.

JESUS, S.V.; MARENCO, R.A. 2008. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**, 38 (4): 815-818.

JIANG, H.X.; TANG, N.; ZHENG, J.G.; LI, Y.; CHEN, L.S. 2009. Phosphorus alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings. **Physiol Plant**, 137: 298–311.

KALAJI, H.M. et al. 2016. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiol Plant**, 38: 102.

KEEFE, K.; ALAVALAPATI, J.A.A.; PINHEIRO, C. 2012. Is enrichment planting worth its costs? A financial cost-benefit analysis. **Forest Policy and Economics**, 23: 10-16.

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

LEHMANN, S.; FUNCK, D.; SZABADOS, L. DORIS. 2010. Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**, 39:949–962.

LEITE, M. L.; VIRGENS FILHO, J. S.; RODRIGUES, J. D. 2000. Variação dos níveis de prolina em folhas de caupi (*Vigna unguiculata*(L.) Walp) submetido a diferentes déficits hídricos. **Biotemas**, 13 (1): 21-33.

LEVENE, H. 1960. In Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling, I. Olkin et al. eds., Stanford University Press, pp. 278-292

LIU, Z.J.; FEI, B.H.; JIANG, Z.H.; CAI, Z.Y. LIU, X.E. 2014. Important properties of bamboluiu pellets to be used as commercial solid fuel in China. **Wood Sci Technol**, 48, 903–917.

LONG, S.P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P.G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annu Rev Plant Biol.**, 45: 633–662.

MA, J.F. 2005. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 24: 267-281.

MAIA, M.A.M.; MARMO, J.L. Geodiversidade do estado do Amazonas. CPRM, Manaus, 2010, 275p.

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

MARSCHNER, H. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3. ed. London: Academic Press, 2012.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N.K. 2009. Soil Chemical Attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 40 (17-18): 2912-2925.

NAVASCUÉS, J.; PÉREZ-RONTOMÉ, C.; SÁNCHEZ, D.H.; C.; IENKOOP, S.; RELLÁN-ÁLVAREZ, R.; BECANA, M. 2012. Oxidative stress is a consequence, not a cause, of aluminum toxicity in the forage legume *Lotus corniculatus*. **New Phytologist**, 193: 625-636.

PLATH, M. et al. 2011. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed species plantations: small-scale effects on tree performance and insect herbivory. **Forest Ecology and Management**, 261: 741-750.

PRESOTTO, R.A.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E.; MATTIELLO, E.M. 2018. Influência do Al³⁺ em solução nutritiva no crescimento de três espécies florestais utilizadas na recuperação de áreas degradadas. **Ciência Florestal**, 28 (1): 384-392.

REHMUS et al. 2014. Aluminum toxicity to tropical montane forest tree seedlings in southern Ecuador: response of biomass and plant morphology to elevated Al concentrations. **Plant Soil**, 382: 301–315.

REHMUS, A.; BIGALKE, M.; VALAREZO, C.; CASTILLO, J.M.; WILCKE, W. 2015. Aluminum toxicity to tropical montane forest tree seedlings in southern Ecuador: Response of nutrient status to elevated Al concentrations. **Plant Soil**, 388: 87-97.

REJEB, K.B.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, 80: 278 -284.

RUSSELL, J.S.; CAMERON, D.M.; WHAN, I.F.; BEECH, D.F.; PRESTWIDGE, D.B.; RANCE, S. J. 1993. Rainforest trees as a new crop for Australia. **Forest Ecology and Management**, 60: 41-58.

SADE, H.; MERIGA, B.; SURAPU, V.; GADI, J.; SUNITA, M.S.L.; SURAVAJHALA, P.; KAVI KISHOR, P.B. 2016. Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. **Biometals**, 29: 187-210.

SANCHES, M.C.; MARZINEK, J; BRAGIOLA, N.G.; NASCIMENTO, A.R.T. 2017. Morpho-physiological responses in *Cedrela fissilis* Vell. Submitted to changes in natural light conditions: implications for biomass accumulation. **Trees**, 31: 215–227.

SCHADCHINA, T.M.; DMITRIEVA, V.V. 1995. Leaf chlorophyll content as a possible diagnostic mean for the evaluation of plant nitrogen uptake from the soil. **Journal of Plant Nutrition**, 18, 1427-1437.

SCHULZE, M. 2008. Technical and financial analysis of enrichment planting in logging gaps as a potential component of forest management in the eastern Amazon. **Forest Ecology and Management**, 255: 866-879.

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

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete sample). *Biometrika*, Great Britain 52 (3): 591-611

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. 2004. 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.

SILVA, S.; PINTO, G.; DIAS, M.C.; CORREIA, C.M.; pereira, j. p.; carnide, O. P.; SANTOS, C. 2012. Aluminium long-term stress differently affects photosynthesis in rye genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, 54: 105-112.

SINGH, S.; TRIPATHIB, D.K.; SINGHA, S.; SHARMAC, S.; DUBEYB, N.K.; CHAUHANA, D.K.; VACULÍKE, M. 2017. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. **Environmental and Experimental Botany**, 137: 177–193.

STEINER, F. 2012. Effects of aluminum on plant growth and nutrient uptake in young physic nut plants. **Semina: Ciências Agrárias**, 33 (5): 1779-1788.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GIANG S.; GOLTSEV, V. 2010. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Bioenergetics* 1797: 1313-1326

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2013. 917 p.

TSIMILLI-MICHAEL M.; STRASSER, R.J. *In vivo* assessment of plant's vitality: applications in detecting and evaluating the impact of mycorrhization on host plants. In: VARMA, A. (Ed.). **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics, and Molecular Biology**, Eco-

Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure, and Systematics, 3rd edition Springer, Dordrecht, p. 679-703, 2008.

YANG, J.L.; LI, Y.Y.; ZHANG, Y.J.; ZHANG, S.S.; WU, Y.R.; WU, P.; ZHENG, S.J. 2008. Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. **Plant Physiol**, 146: 602–661.

YANG, J.L.; ZHU, X.F.; ZHENG, C.; ZHANG, Y.J.; ZHENG, S.J. 2011. Genotypic differences in Al resistance and the role of cellwall pectin in Al exclusion from the root apex in *Fagopyrum tataricum*. **Ann Bot**, 107: 371–378.

YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N.B. 2010. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1797: 1428–1438.

ZEUGIN, F.; POTVIN, C.; JANSA, J.; SCHERER-LORENZEN, M. 2010. Is tree diversity an important driver for phosphorus and nitrogen acquisition of a young tropical plantation? **Forest Ecology and Management**, 260: 1424-1433.

ZHANG, B.; LIU, P.; YANG, Y.S.; XU, G.D. 2007. Effect of Al in soil on photosynthesis and related morphological and physiological characteristics of two soybean genotypes. **Bot Stud**, 48:435–444.

ZHANG, H.; JIANG, Z.; QIN, R.; ZHANG, H.; ZOU, J.; JIANG, W.; LIU, D. 2014. Accumulation and cellular toxicity of aluminum in seedling of *Pinus massoniana*. **Plant Biology**, 14: 264.

ZHANG, Y.H.; WANG, E.M.; ZHAO, T.F.; WANG, Q.Q.; CHEN, L.J. 2018. Characteristics of chlorophyll fluorescence and antioxidant-oxidant balance in pepc and ppdk transgenic rice under aluminum stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, 65 (1): 49-56.

EFEITO DO MANGANÊS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CEDRO

Manaus

2021

CAPÍTULO 2: EFEITO DO MANGANÊS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CEDRO

RESUMO

O Mn é um elemento essencial para as plantas, mas pode apresentar efeitos de fitotoxicidade em condições de baixo pH e/ou com baixos níveis de oxigênio. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito e estabelecer os níveis ótimos de Mn necessários para o desenvolvimento inicial do cedro. Nós cultivamos mudas com 90 dias de idade sob o efeito de cinco níveis de Mn (0,0; 1,5; 3,0; 9,0; 50 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$), em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Observamos que o aumento das concentrações de Mn reduziu o teor e acúmulo de nutrientes, produção de massa seca da parte aérea das plantas, índices de fluorescência e índice de clorofila. Por outro lado, as doses acima de 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn promoveram aumento na concentração de prolina nas raízes. Diante disso, concluímos que o crescimento das mudas de cedro é inibido pelas doses de Mn, apresentando concentrações críticas de 2,78 e 5,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn de deficiência e toxicidade, respectivamente.

Palavras-chave: Fluorescência da clorofila, *Cedrela fissilis*, estresse mineral, acidez do solo

ABSTRACT

Mn is an essential element for plants, but it can have phytotoxic effects under conditions of low pH and/or low oxygen levels. The aim of this study was to investigate the effect and establish the optimal levels of Mn needed for early cedro development. We cultivated 90 days of age plants under the effect of six levels of Mn (0.0; 1.5; 3.0; 9.0; 50 and 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$), in a completely randomized design with five repetitions. We observed that increasing we observed that increasing Mn concentrations reduced nutrient content and accumulation, shoot dry mass production, fluorescence index and chlorophyll index. However, we noticed that doses above 9.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Mn promoted an increase in the proline concentration in the roots. Therefore, we conclude that the growth of cedro seedlings is inhibited by Mn doses, with critical concentrations of 2.78 and 5.55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Mn deficiency and toxicity, respectively.

Keywords: Chlorophyll fluorescence, *Cedrela fissilis*, mineral stress, soil acidity

1. INTRODUÇÃO

A biodisponibilidade do manganês (Mn) no solo é altamente influenciada pelos níveis de oxigênio e também pela acidez (SIEPRAWKA et al., 2016; SHAO et al., 2017). A diminuição do pH e da disponibilidade de O₂ do solo aumentam a disponibilidade de Mn²⁺, que é a forma preferencialmente absorvida pelas plantas (MARSCHNER, 2012; SIEPRAWKA et al., 2016).

De modo geral, as plantas necessitam de pequenas quantidades de Mn para um crescimento adequado (SHAO et al., 2017). Por outro lado, em regiões tropicais, onde predominam solos ácidos (pH<5,0) é comum a ocorrência de Mn em níveis tóxicos, causando distúrbios fisiológicos e nutricionais nas plantas (HUANG et al., 2016; SIEPRAWKA et al., 2016).

O Mn é essencial às plantas devido à sua atuação em diversos processos vitais, tais como, ativação enzimática, síntese proteica, síntese de clorofila e fotossíntese (MILLALEO et al., 2013; PAN et al., 2018). Sua deficiência reduz o teor de clorofila e diminui a eficiência fotossintética (ALEJANDRO et al., 2020), pois afeta diretamente o fotossistema II (PSII) (SHAO et al., 2017), conseqüentemente, diminui o crescimento e biomassa das plantas (ALEJANDRO et al., 2020), resultando em clorose internerval em folhas jovens (SHAO et al., 2017).

Contudo, quando em excesso no meio de cultivo, o Mn promove funcionamento anormal dos processos metabólicos das plantas (CHATZISTATHI et al., 2011; PAN et al., 2018) e proporciona desarranjos nutricionais e efeito negativo no crescimento e produção (CHATZISTATHIS et al., 2011). Na fotossíntese, o estresse por excesso deste nutriente limita o fluxo de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I, restringindo a formação de ATP e NADPH, compostos que seriam utilizados na fixação de carbono (CO₂), diminuindo assim a assimilação de CO₂ (LI et al., 2010; MILLALEO et al., 2013; TAIZ e ZEIGER, 2013; ANDRADE e BOARETTO, 2019). O que resulta em danos morfológicos às folhas e raízes (MILLALEO et al., 2013; PARASHAR et al., 2014; DZIWORNU et al., 2018; PAN et al., 2018). Esses danos podem ser observados por pontos de necrose nas folhas mais jovens e no ápice do caule (ANDRADE e BOARETTO, 2019). O excesso de Mn também influencia negativamente a absorção de elementos como o cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe) e fósforo (P) (MADHUMITA e SHARMA, 1991; SALVADOR et al., 2003).

Diante do estresse pelo excesso de Mn as plantas aumentam a produção espécies reativas de oxigênio (ERO's), em decorrência do desequilíbrio entre a síntese de compostos oxidantes e antioxidantes (GILL e TUTEJA, 2010). Para atenuar os danos, as plantas dispõem de mecanismos de defesa não enzimáticos, como o aumento da produção de prolina (CHEN et al., 2010). Este aminoácido contribui para o equilíbrio redox da célula, eliminação de ERO's e estabilização da síntese de proteínas (LEHMANN et al., 2010; ASLAM et al., 2017; SALA et al., 2021).

Apesar de existirem trabalhos científicos relacionados à influência do Mn para muitas culturas, especialmente agrônômicas, ainda há necessidade de compreender como este elemento impacta o crescimento e desenvolvimento de espécies arbóreas florestais (GONÇALVES et al., 2012). Além disso, ainda não existe consenso sobre quais os níveis Mn tolerados por esses vegetais na fase inicial de cultivo. Entre essas espécies destaca-se o cedro (*Cedrela fissilis* Vell), da família Meliaceae. Trata-se de uma espécie secundária a clímax (RENÓ et al., 1997), que ocorre naturalmente em florestas tropicais (SANCHES et al., 2017) de terra firme, onde aproximadamente 85% dos solos são fortemente ácidos (FAGERIA e BALIGAR, 2001; YAO et al., 2012).

O cedro é uma espécie de grande importância econômica devido à alta qualidade de sua madeira (SANCHES et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2020). Isto permite proporcionar renda tanto local quanto nacionalmente (CUSATIS, 2016). Isso tem proporcionado aumento da demanda (ZEUGIN et al., 2010) e exercido uma forte pressão sobre as florestas naturais nos trópicos (PLATH et al., 2011) provocando a redução das populações nativas (ZEUGIN et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2020). Consequentemente, *C. Fissilis* é uma das três espécies do gênero (*Cedrela*), incluída na Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçada de Extinção pelo Decreto nº 443 do Ministério do Meio Ambiente de 17 de dezembro de 2014) (NOGUEIRA et al., 2020).

Diante disso, esforços devem ser feitos para o cultivo dessa espécie em programas de enriquecimento de florestas secundárias ou mesmo em plantios puros (SCHULZE et al., 2008; HOCH et al., 2009; KEEFE et al., 2012). Dessa forma, uma compreensão do requerimento ecofisiológico, em especial às características químicas do solo, será de fundamental importância para o desenvolvimento de um sistema sustentável para reflorestamento de áreas degradadas ou produção de madeira em florestas implantadas em solos altamente intemperizados, distróficos e com elevada concentração de Mn ativo, como aqueles dos trópicos úmidos (WEBB et al., 2000) e biomas afins. Portanto, no presente estudo objetivou avaliar a influência do Mn no crescimento, nutrição mineral,

aspectos fisiológicos, bem como estabelecer os níveis ótimos deste elemento para o desenvolvimento inicial do cedro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições de crescimento

O estudo foi conduzido no Departamento de Engenharia Agrícola e Solos/Faculdade de Ciências Agrárias, na Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. O cultivo das plantas foi realizado em casa de vegetação com condições ambientais semicontroladas: luz natural, temperatura média de 34,29 °C, umidade relativa do ar de 63% e de densidade de fluxo de fóton fotossintético 612,3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.2. Tratamento e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos por seis concentrações de Mn (0,0; 1,5; 3,0; 9,0; 50 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Utilizamos uma planta por unidade experimental, totalizando 30 plantas. Os níveis de Mn estão fundamentados em resultados experimentais de Kopittke et al (2010) e Santos et al (2017).

2.3. Procedimentos específicos

Preparo do substrato e recipiente: utilizamos como substrato, areia grossa de rio passada em peneira com malha entre 0,05 e 2 mm de diâmetro, lavada em água de torneira até que a água drenada ficasse incolor. Em seguida, a areia ficou submersa em uma solução de HCl 0,5 mol L⁻¹ por 24 horas. Posteriormente aplicou-se sucessivas lavagens da areia com água de torneira. Finalmente, foi lavada em água deionizada, até que água drenada apresentasse condutividade elétrica (CE) $\leq 3 \mu\text{S/cm}$, sendo, posteriormente, seca sob condições naturais. O substrato seco foi acondicionado em vasos plásticos de polietileno com capacidade volumétrica de 3,5 dm³, com poro de drenagem controlado. Os vasos foram pintados externamente com tinta spray para alta temperatura para reduzir a absorção de luz e aquecimento do substrato e da solução nutritiva.

Obtenção de mudas: sementes de cedro, oriundas de 10 matrizes, foram beneficiadas e desinfestadas externamente com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos e posteriormente lavadas com água de torneira e água deionizada. Em seguida, foram

colocadas para germinar em areia de rio lavada e desinfestada com hipoclorito de sódio 0,3%. Utilizamos como recipientes, bandejas plásticas com dimensões de 60 x 40 x 10 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente. O substrato recebeu irrigação diária com aproximadamente 200 mL de água deionizada, e a cada quatro dias foi fornecido 200 mL de solução de CaCl_2 $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ até 30 dias após a germinação (DAG).

Pré-cultivo: Plântulas com 30 DAG foram selecionadas quanto a uniformidade e transplantadas nos recipientes, onde foram pré-cultivadas por 60 dias. Nessa fase, foi fornecida uma adubação básica na forma de solução nutritiva com força iônica equivalente a 1/10 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950), sendo constituída de $1,4 \text{ mmol}$ de N-NO_3^- (NH_4NO_3); $0,19 \text{ mmol}$ de N-NH_4^+ ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$); $0,6 \text{ mmol}$ de K (K_2SO_4); $0,4 \text{ mmol}$ de Ca ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$); $0,2 \text{ mmol}$ de Mg ($(\text{MgNO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); $0,1 \text{ mmol}$ de P (KH_2PO_4); $0,2 \text{ mmol}$ de S (K_2SO_4); $5,0 \text{ }\mu\text{mol}$ de Cl ($\text{NaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); $3,20 \text{ }\mu\text{mol}$ de Fe (Fe-EDTA); $0,91 \text{ }\mu\text{mol}$ de Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$); $0,08 \text{ }\mu\text{mol}$ de Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); $4,63 \text{ }\mu\text{mol}$ de B (H_3BO_3); $0,03 \text{ }\mu\text{mol}$ de Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); $0,01 \text{ }\mu\text{mol}$ de Mo ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). O pH da solução de pré-cultivo foi ajustado para 5,8 utilizando NaOH e/ou HCl , ambos $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Aplicação dos tratamentos e cultivo: Após a fase de pré-cultivo, as plantas receberam os tratamentos utilizando como fonte de Mn o sulfato de manganês (MnSO_4). Nessa mesma época, foi fornecido uma adubação básica (sem Mn) com força iônica equivalente a 1/4 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950). O pH da solução de cultivo foi ajustado para 5,0, utilizando NaOH ou HCl , ambos na concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Fornecimento dos nutrientes e troca de soluções: tanto na fase de pré-cultivo quanto de cultivo, os nutrientes foram fornecidos a cada três dias com aproximadamente 50 ml de solução nutritiva por vaso, nos demais dias foram fornecido 50 ml de água deionizada (pH = 5,8 no pré-cultivo e pH = 5,0 na fase de cultivo). A saturação do substrato no recipiente foi mantida em torno de 65% da capacidade de saturação total ($\approx 580 \text{ ml}$ de solução), visando evitar estresse por anoxia. A renovação da solução ocorreu a cada 15 dias na fase de pré-cultivo e, a cada sete dias na fase de cultivo, visando a dessalinização do substrato. A substituição iniciou-se com o monitoramento da CE da solução nutritiva, seguida pelo fornecimento de água deionizada ao substrato, até que a água drenada dos vasos apresentasse $\text{CE} < 3 \text{ }\mu\text{S/cm}$ e, em seguida foi adicionada a nova solução de cultivo.

2.4. Avaliação do experimento

O efeito das concentrações de Al nas plantas foi mensurado pela variação dos parâmetros fotossintéticos, taxa de crescimento relativo da parte aérea (TCR) e absoluto das raízes (TCA), produção de matéria seca, teor de prolina e estado nutricional das plantas, 30 dias após contato das plantas com os tratamentos.

Fluorescência da clorofila a: realizamos a medição no segundo folíolo da terceira folha, a partir do ápice da planta, no período da manhã (10h às 11h). Antes da medição, as folhas de cedro selecionadas para análise foram adaptadas ao escuro por 30 minutos, usando cliques de plástico especiais, para iniciar todos os centros de reação para abrir e minimizar os processos fisiológicos associados à energização da membrana dos tilacóides. Após a adaptação das folhas ao escuro, a face adaxial da folha foi então exposta a um pulso de excitação de 5 s de alta irradiância ($3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) com um comprimento de onda de 650 nm. Em seguida, foi determinada a fluorescência mínima (F_0), máxima (F_m) e variável (F_v), utilizando um fluorômetro portátil (PEA, MK2 - 9600 - Hansatech, Norfolk, UK). Os dados obtidos foram analisados pelo teste JIP (STRASSER et al., 2010), e usados para calcular o rendimento quântico máximo da fotoquímica do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m), comportamento do PSII por meio do índice de desempenho com base na absorção (PI_{abs}) e índice de desempenho total com base na absorção (PI_{total}).

Índice de clorofila relativo (ICR): medimos o ICR nas mesmas folhas utilizadas para avaliar a fluorescência da clorofila *a*, utilizando um medidor de clorofila portátil (SPAD-502). As leituras de ICR foram realizadas no ponto médio do folíolo, no espaço entre as principais nervuras, as medições foram feitas entre 10h e 14h, em duas repetições. Portanto, o valor de ICR corresponde à média de duas leituras obtidas em cada unidade experimental.

Taxa de crescimento relativo: a altura da parte aérea (ALT), medimos desde a base do coleto até a gema apical da planta, com o auxílio de uma régua graduada em cm, e o diâmetro do coleto (DC), medimos com um paquímetro digital (King Tools 0 - 200 mm), a 0,5 cm da superfície da areia. Essas medidas foram feitas antes e após a fase de cultivo das plantas. Após a retirada das plantas do substrato, mensuramos o comprimento das raízes (CR) com o auxílio de uma régua graduada em cm. De posse dos dados de ALT e DC, foram calculadas as taxas de crescimento relativo (TCR) (BUGBEE, 1996; DAVANSO et al., 2002).

Produção de massa seca: após a retirada das plantas do substrato, estas foram compartimentalizadas em parte aérea (folha + caule + pecíolos) e raízes. Em seguida, foram lavadas em água deionizada e secas em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura de 65°C até atingirem massa constante. Após a secagem, foi determinada a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e massa seca total (MST) (MST = MSPA + MSR), utilizando-se balança com precisão de 0,001 g. A partir dos dados de massa seca, foram calculadas razão das raízes/ parte aérea (RRPA), razão de massa seca de raízes (RMR) e razão massa seca da parte aérea (RMPA) (DICKSON et al., 1960).

Teor de prolina: foi determinado na MSR, conforme Bates, Waldren e Teare (1973), com adaptação de Leite, Virgens Filho e Rodrigues (2000). As amostras foram maceradas e homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfossalicílico 3% (p/v). Em seguida, a mistura foi transferida para tubos de microcentrífuga (15 mL) e centrifugada a 6000 rpm por 30 min. Foram coletados 2 mL do sobrenadante e transferidos para tubos de microcentrífuga, onde foram acrescentados 2 mL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial concentrado). Posteriormente, os tubos, hermeticamente fechados, foram levados ao banho-maria a 100°C durante 1 hora. Logo após, os tubos foram colocados em recipientes contendo gelo para finalizar a reação. Em seguida, cada tubo recebeu 4 mL de tolueno e foram agitados (15 a 20 segundos). Os tubos foram deixados em repouso até a mistura formar duas fases, posteriormente o sobrenadante foi pipetado em microtubo. A leitura destas amostras foi feita em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando-se o tolueno como branco. A concentração de prolina foi estimada com o auxílio de reta padrão previamente estabelecida.

Sintomatologia, teor e acúmulo de nutrientes na parte aérea: ao final do experimento, os sintomas do estado nutricional das plantas foram caracterizados, descritos e fotografados (Câmera/Canon - T7i). Complementarmente, a MSPA foi moída em moinho tipo Willey para serem analisadas quimicamente quanto ao teor total de nitrogênio (N), K, Ca, Mg, P, enxofre (S), Fe, Mn, Zn, boro (B) e Cu, conforme (MALAVOLTA; VITTI e OLIVEIRA, 1997). O acúmulo de nutrientes (AN) na parte aérea das plantas foi calculado conforme a equação: AN (g ou mg planta⁻¹) = concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹) x MSR (g).

2.5. Análise de dados

Os resultados obtidos foram previamente submetidos à teste de detecção para retirada de *outliers* e, em seguida aos testes de normalidade (SHAPIRO e WILK, 1965) e homogeneidade de variâncias (LEVENE, 1960). Os dados que não atenderam estes pressupostos (teor de Mn, N, Mg, P, Zn e Cu, acúmulo de Mn, N, K, Ca e Zn, PI_{abs} , PI_{total} , F_v/F_m , prolina, MSPA, MST e TCA_{raiz}), foram transformadas na função logarítmica base 10 e, submetidos novamente aos testes de normalidade de homoscedasticidade. Como as variáveis teor de N, Mn, Cu, acúmulo de N e Ca, PI_{abs} , PI_{total} , F_v/F_m , prolina e MSPA persistiram anormais e/ou heterogêneas, os dados foram submetidos a análise não paramétrica (KRUSKAL e WALLIS, 1952), teste da soma de postos (MANN e WHITNEY, 1947) e regressão quantílica (KOENKER e BASSETT, 1978, 1982). A partir das equações de ajuste quadrático negativo foram estimados os níveis críticos deficiência e/ou toxidez de Mn ($\mu\text{mol L}^{-1}$) no substrato, correspondente à dose que promove uma redução de 10% da variável resposta em relação a dose zero de Mn.

3. RESULTADOS

3.1. Teor, sintomatologia e acúmulo de nutrientes nas plantas

Observamos que os níveis crescentes de Mn no substrato de cultivo influenciaram significativamente os teores de Mn, N, P, Cu ($P < 0,01$) e Zn ($P < 0,05$) (Figura 7), mas não afetaram as concentrações de K, Ca, Mg, S, Fe e B na parte aérea das plantas (dados não apresentados).

Como não há dados de referência na literatura referentes a concentrações de nutrientes na massa da parte aérea de *Cedrela fissilis*, em plantas com idades semelhantes ao presente estudo, nós comparamos os nossos dados com os resultados encontrados em folhas maduras de espécies anuais e perenes (MARSCHENR, 2012) para Mn e para os demais elementos comparamos com dados de *Cedrela odorata* cultivadas em solução nutritiva durante seis semanas (REHMUS et al., 2015).

No presente estudo, observamos que a faixa de concentração de Mn na parte aérea variou de 9,2 a 12,3 mg kg^{-1} , permanecendo abaixo da faixa considerada adequada para o crescimento das plantas (MARSCHENR, 2012). Quanto às concentrações de N (11,5 - 15,5 g kg^{-1}), P (1,0 - 1,6 g kg^{-1}) e Cu (2,4 - 3,5 mg kg^{-1}), permaneceram abaixo da faixa considerada adequada para o crescimento inicial das plantas (REHMUS et al., 2015) em

todos os tratamentos. Em relação ao teor de Zn, no presente estudo, a classe de interpretação do estado nutricional foi dependente da dose de Mn no substrato de cultivo. Enquanto no tratamento com $0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn ($33,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn) ficou dentro da faixa considerada adequada para o bom desenvolvimento das plantas (REHMUS et al., 2015). Por outro lado, os tratamentos com $1,5$ e $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato apresentaram teores de $36,1$ a $37,8 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn na parte aérea. Estes valores permaneceram acima da faixa, enquanto nos demais tratamentos os teores de Zn permaneceram abaixo da faixa considerada adequada (REHMUS et al., 2015).

Os teores de Mn na parte aérea das plantas se ajustaram ao modelo matemático de segundo grau positivo (Figura 7). Da esquerda para a direita da curva, há uma redução no teor de Mn, e o menor valor da concentração deste elemento na parte aérea das plantas foi atingido quando adicionado $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, em seguida, os valores voltaram a aumentar até a dose de $200,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato de cultivo (Figura 7a). Os níveis de Mn proporcionaram maiores teores de Mn ($12,3 \text{ mg kg}^{-1}$) na dose de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$, um aumento médio de 39% em relação a dose de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$, que apresentou menor teor de Mn ($9,2 \text{ mg kg}^{-1}$).

Os teores de N, Zn e Cu se ajustaram a um modelo polinomial de segundo grau negativo. A dose de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ proporcionou maior acúmulo para N ($15,3 \text{ g kg}^{-1}$) e Cu ($3,5 \text{ g kg}^{-1}$), um aumento de 25 e 46%, respectivamente, comparado com o tratamento sem fornecimento de Mn. Os níveis críticos de deficiência (NCD) e toxicidade (NCT) de Mn referentes aos teores de N e Cu situaram em torno de $0,46$ a $5,55$ e $1,86$ a $5,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente (Figuras 7b, e). O Zn se ajustou à equação quadrática, porém, apresentou redução à medida que aumentou os níveis de Mn. A dose referente ao NCT de Mn no substrato foi estimada em $4,19 \mu\text{mol L}^{-1}$.

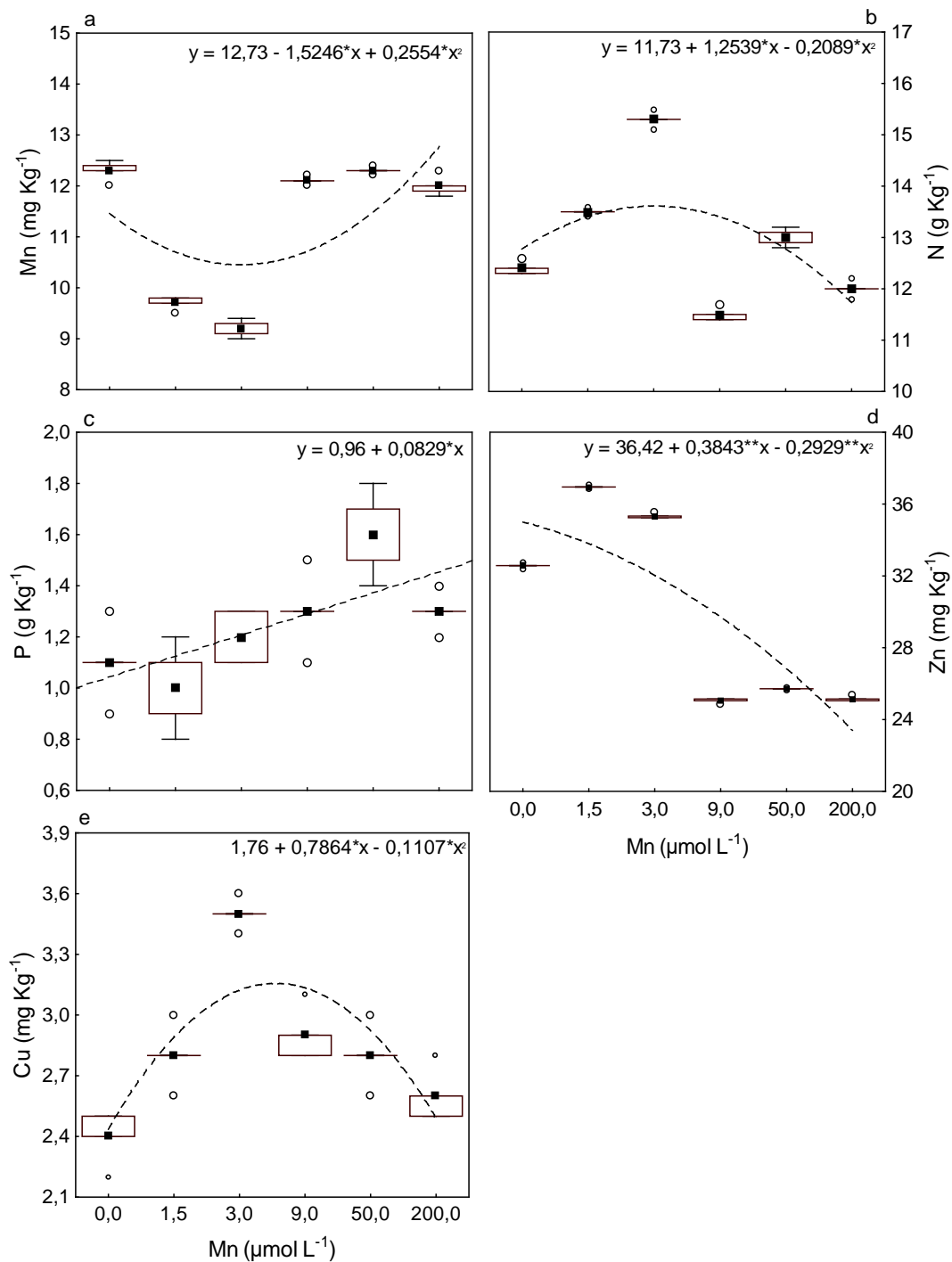


Figura 7. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o teor de manganês (Mn) (a), nitrogênio (N) (b), fósforo (P) (c), zinco (Zn) (d) e cobre (Cu) (e) na parte aérea de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 30 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

A elevação das taxas de Mn no substrato de cultivo promoveu um aumento linear e positivo no teor de P na parte aérea das plantas (Figura 7c), apresentando um aumento de 0,0829 g Kg⁻¹ de P para cada unidade disponibilizada de Mn a solução de cultivo. Além disso, observamos que o P apresentou um padrão de resposta oposto àquele observado para os teores de Zn.

Em relação aos sintomas visuais do estado nutricional das plantas, nós observamos clorose e redução da expansão foliar, menor crescimento radicular e do coleto nos tratamentos 1,5; 3,0; 50,0 e 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn (Figura 8), após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. As plantas sob a dose 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn apresentaram também pequenas manchas marrons nas folhas. Por outro lado, as plantas expostas à dose de 9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, mostraram valores de mediana de 12,1 de mg kg⁻¹ de Mn na parte aérea e estas plantas apresentam um maior volume do sistema radicular comparado aos demais tratamentos (Figura 8). De modo geral, as plantas cultivadas na ausência de Mn apresentaram maior crescimento da parte aérea e menor crescimento e produção de massa seca do sistema radicular.



Figura 8. Ilustração do efeito dos níveis de Mn sobre mudas de *Cedrela fissilis* cultivadas por 30 dias sob diferentes níveis de Mn.

As doses de Mn influenciaram significativamente ($P < 0,05$) o acúmulo de N, K, Ca, S, Mn, Zn e B (Figura 9), mas não afetaram o acúmulo de Mg, P, Fe e Cu (dados não apresentados).

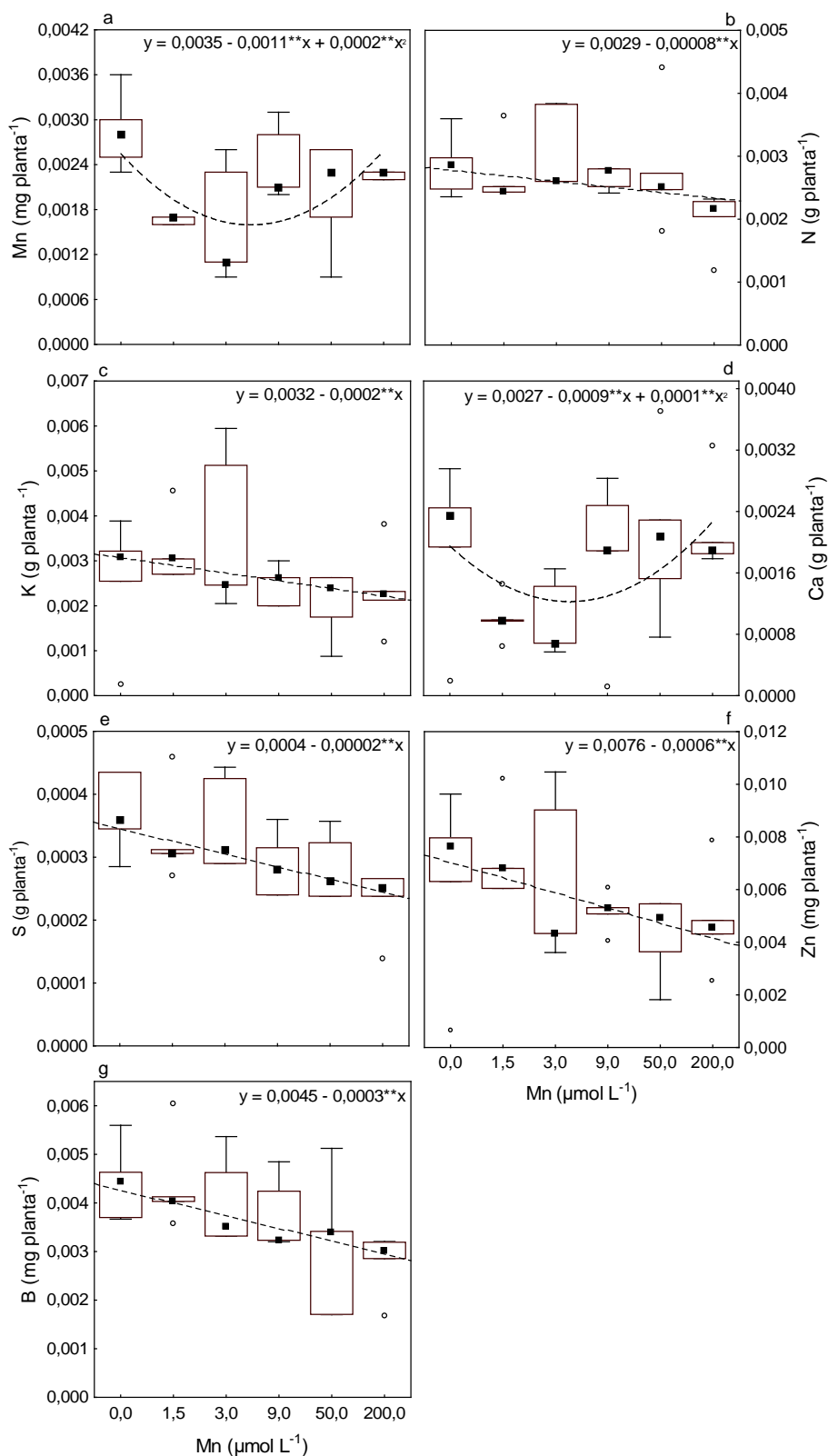


Figura 9. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o acúmulo de manganês (a), nitrogênio (N) (b), potássio (K) (c), cálcio (Ca) (d), enxofre (S) (e), zinco (Zn) (f) e boro (B) (g) na parte aérea de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. $** P < 0,05$.

O aumento dos níveis de Mn no substrato reduziu linearmente o acúmulo de N, K, S, Zn e B (Figuras 9b, c, e, f, g), promovendo um decréscimo de 0,00008 g; 0,0002 g; 0,00002 g; 0,0006 mg e 0,0003 mg planta⁻¹, respectivamente, para cada unidade de Mn adicionada ao substrato. O acúmulo de Mn e Ca na parte aérea das plantas se ajustaram a um modelo matemático de segundo grau positivo. Da esquerda para a direita da curva notamos uma redução no teor desses elementos. O ponto de mínimo de Mn, referente ao acúmulo de Mn e Ca foi estimado em torno de 5,16 e 8,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente. De modo geral, houve redução no acúmulo de Mn, N, K, Ca, S, Zn e B de 29, 24, 36, 13, 25, 34 e 32% na dose de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ comparado com o tratamento sem Mn.

3.2. Fluorescência da clorofila e índice relativo de clorofila SPAD

Os níveis de Mn no substrato de cultivo influenciaram significativamente as variáveis PI_{total} ($P < 0,01$), PI_{abs} , F_v/F_m e IRC ($P < 0,05$).

O aumento na concentração de Mn no substrato de cultivo proporcionou uma redução linear nos valores das variáveis PI_{abs} , PI_{total} e F_v/F_m (Figuras 10a, b, c). Cada unidade de Mn adicionada ao substrato contribuiu para a redução de 0,0746; 0,0399 e 0,0216 nos valores de PI_{abs} , PI_{total} e F_v/F_m , respectivamente. Por outro lado, o ICR se ajustou a um modelo quadrático negativo (Figura 10d), apresentando um aumento até a dose de 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, estabilizando e, em seguida, apresentando uma queda a partir da dose de 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato. Os valores de NCD e NCT de Mn no substrato corresponderam a 0,32 a 4,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Observamos que o rendimento quântico máximo (F_v/F_m) ficou abaixo do nível considerado crítico para as plantas (0,8) (CHATZISTATHIS et al., 2010) a partir da dose de 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn. A redução nos valores de PI_{abs} , PI_{total} e F_v/F_m foram de aproximadamente 56, 61 e 12%, respectivamente, na dose de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn em relação ao tratamento sem fornecimento de Mn. O ICR apresentou um decréscimo de 34% na dose de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em relação a dose de 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No geral, a dose de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn apresentou as menores medianas das variáveis PI_{abs} , (0,35), PI_{total} (0,18), F_v/F_m (0,702) e IRC (0,35) em comparação aos demais tratamentos.

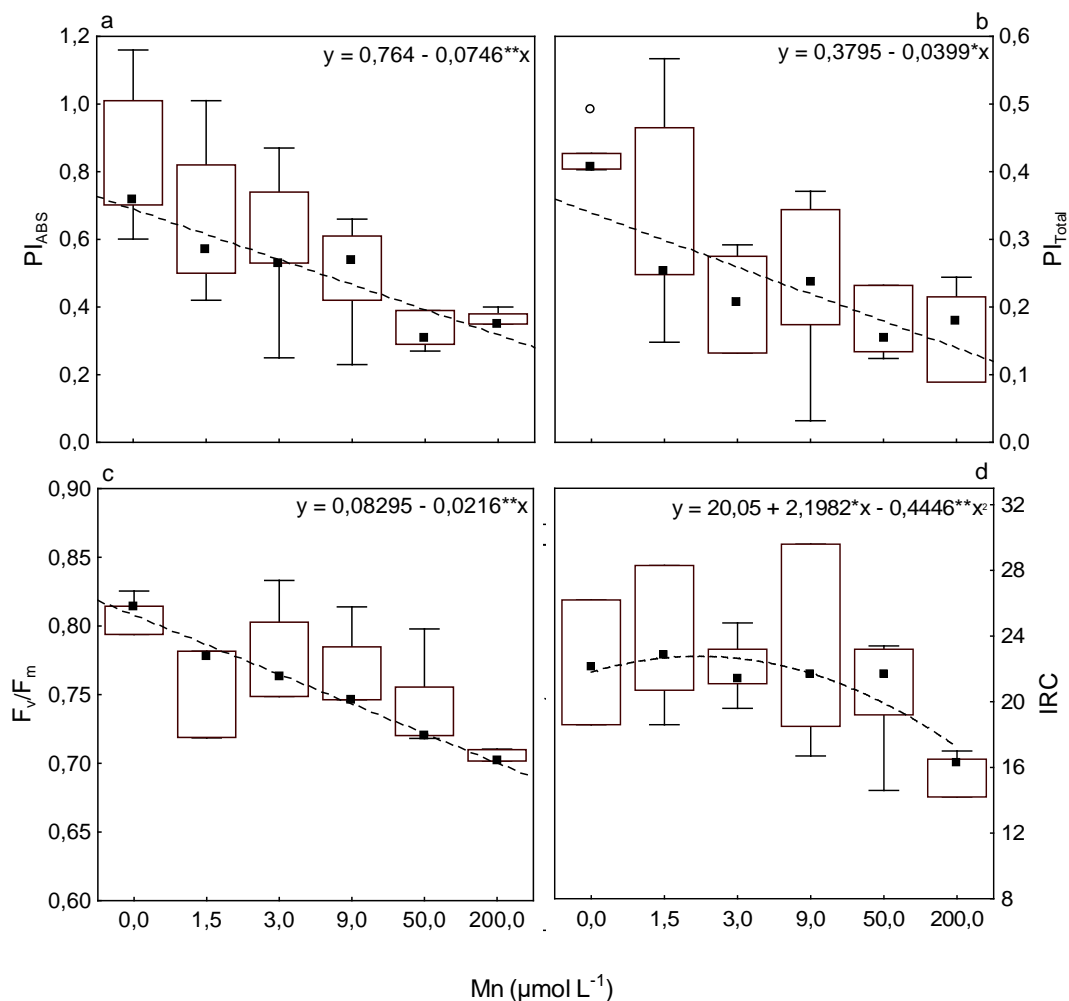


Figura 10. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o índice de desempenho na base ABS (PI_{abs}) (a), índice de desempenho total (PI_{total}) (b), eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m) (c) e Índice relativo à clorofila (IRC) (d) nas folhas de plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

3.3. Teor de prolina nas raízes

Os níveis de Mn influenciaram significativamente ($P < 0,01$) a concentração de prolina nas raízes. Os dados desta variável se ajustaram a um modelo matemático de segundo grau positivo. Da esquerda para a direita da curva, notamos uma diminuição no teor de prolina e o menor valor da concentração deste aminoácido nas raízes das plantas foi alcançado quando adicionou $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn e, em seguida os valores voltaram a aumentar até a dose de $200,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato de cultivo (Figuras 11).

Observamos que o fornecimento das doses de 3 e 9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ reduziram em 40 e 39% a concentração de prolina (7,63 e 7,81 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MSPA), respectivamente, em relação ao tratamento sem fornecimento de Mn. A dose de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ proporcionou aumento de 49% na concentração de prolina (15,27 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MSR) em relação a dose de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Estimamos a dose de 6,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn referente como ponto mínimo de concentração de prolina (7,07 $\mu\text{g g}^{-1}$ MSPA). O aumento no teor de prolina apresentou resposta semelhante ao observado para o teor e acúmulo de Mn (Figura 7a e 9a) e resposta oposta ao teor de N e Cu (Figura 7b, e) e ICR (Figura 10d) na parte aérea das plantas em função das doses de Mn no substrato.

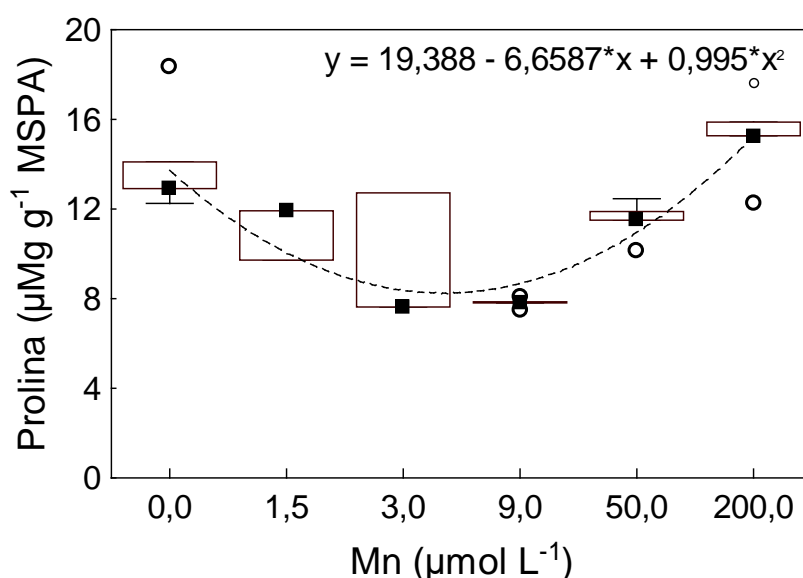


Figura 11. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre o teor de prolina nas raízes de plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * $P < 0,01$.

3.4. Crescimento das plantas

Os níveis de Mn no substrato influenciaram significativamente as variáveis de crescimento MSPA, MSR, TCA_{raiz} ($P < 0,05$), MST e RMPA ($P < 0,01$) das plantas de cedro (Figura 12), mas não influenciaram as variáveis TCR_{ALT} , TCR_{CR} , ALT, DC, MST, RRPA e RMR (dados não apresentados).

A elevação das taxas de Mn no substrato de cultivo reduziu os valores das variáveis de crescimento MSPA e RMPA. Os dados de MSPA ajustaram a um modelo matemático curvilíneo positivo (Figura 12a), onde observamos, da esquerda para a direita

da curva, uma redução na produção de MSPA, sendo o menor valor desta variável obtido quando adicionou $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e, em seguida os valores voltaram a aumentar até a dose de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato de cultivo. Houve uma redução de 24% da MSPA na dose $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn em relação a dose zero. Por outro lado, os resultados de RMPA (Figura 12d) ajustaram a modelo matemático linear. Apresentando uma redução de $0,0269 \text{ g Kg}^{-1}$ para cada unidade disponibilizada de Mn a solução de cultivo.

Em relação ao efeito do Mn nas variáveis MSR (Figura 12b) e TCA_{raiz} (Figura 12b), observamos que os resultados também ajustaram a um modelo matemático de segundo grau, mas negativo. De modo geral, notamos da esquerda para a direita das curvas, há um aumento na produção de raízes, sendo o maior valor destas variáveis alcançados com as doses de 9 e $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente. Em seguida os valores diminuíram até a dose de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn no substrato de cultivo. As doses de NCD e NCT de Mn situaram em torno 2,78 a 5,38 e 2,39 a $5,11 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn nas variáveis MSR e TCR_{raiz} , respectivamente.

Apesar do padrão de resposta oposto observado entre as variáveis MSPA (Figura 12a) e MSR (Figura 12b), notamos que as doses crescentes de Mn no substrato de cultivo aumentaram linearmente os valores da produção de MST (Figura 6c). A produção de MST aumentou 13% na dose de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, em relação a dose zero.

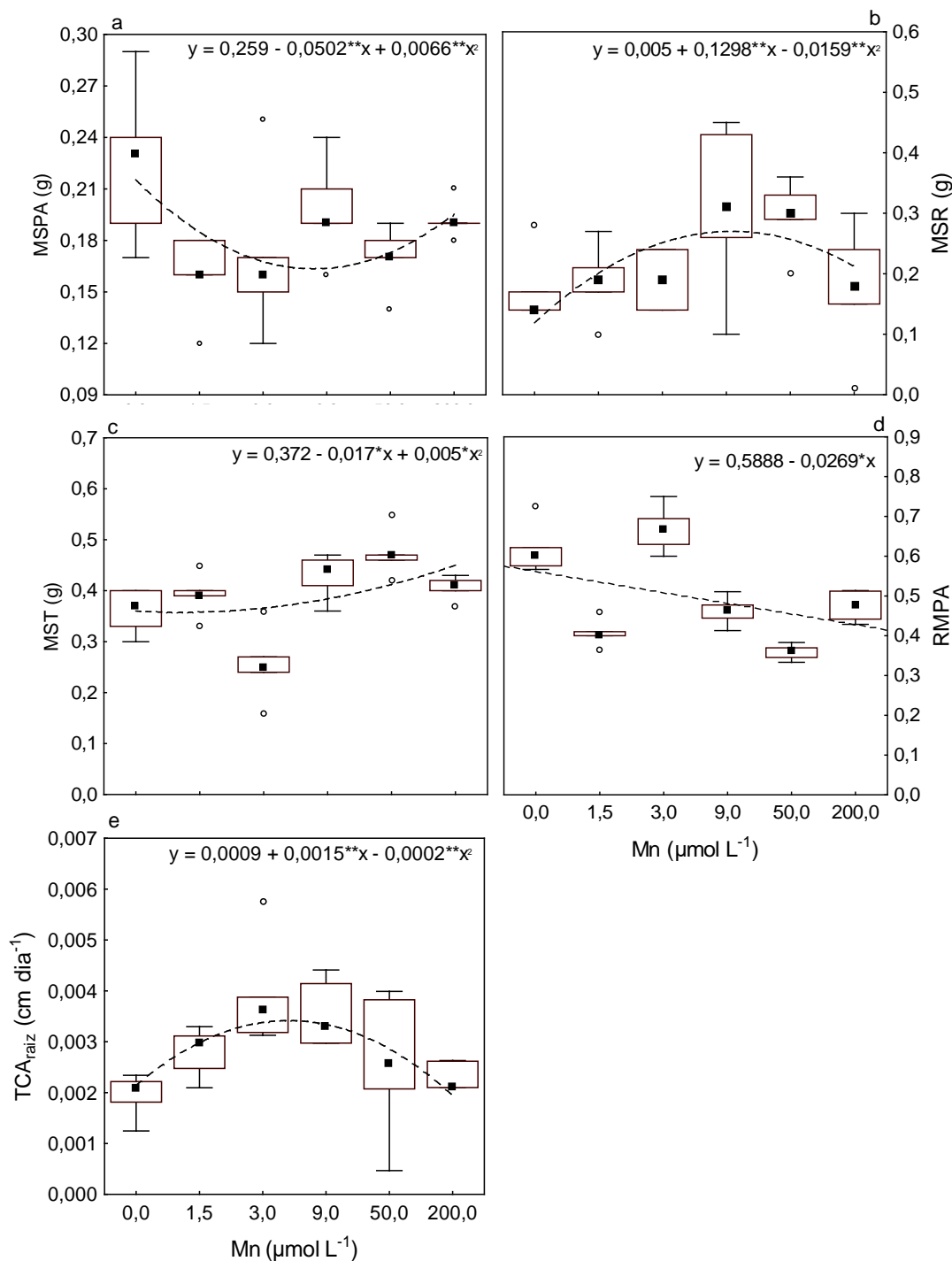


Figura 12. Efeito de diferentes níveis de Mn sobre a produção massa seca da parte aérea (MSPA) (a), massa seca da raiz (MSR) (b), massa seca total (MST) (c), razão de massa seca da parte aérea (RMPA) (d) e taxa de crescimento absoluto das raízes (TCA_{raiz}) (e) nas plantas de *Cedrela fissilis*, após 30 dias de contato das plantas com os tratamentos. Caixas mostram os quartis de 25 e 75 %, barras mostram os quartis de 10 e 90 %, quadrados cheios mostram a mediana e círculos vazios mostram outliers. * e ** $P < 0,01$ e $0,05$, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

Experimentamos compreender como as doses de Mn impactam o desenvolvimento de mudas de *C. fissilis*. Observamos que na fase inicial de desenvolvimento o Mn teve efeito positivo no teor de nutriente, produção de massa seca e crescimento das raízes na faixa estimada de 2,39 a 5,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, com redução na produção de prolina.

Observamos que embora o crescimento da parte aérea das plantas diminuiu sob os níveis de Mn em relação a dose zero, o comprimento das raízes aumentou (Figura 12). Esse estímulo no crescimento radicular, promovido por doses de até 9 mol L^{-1} de Mn (Figura 8), deve estar ligado ao ácido indolacético (IAA). O Mn está associado à síntese de IAA que induz o alongamento e divisão celular (POONPAKDEE, KHAWMEE e ONTHONG, 2021). Os resultados indicam que há ocorrência de estresse abiótico, tanto em situação de deficiência, estimamos a dose de NCD até 2,78 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, quanto em excesso desse nutriente, a partir da dose estimada de NCT de 4,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, influenciando diretamente o crescimento de raízes. Tal premissa é confirmada pelo Mn induzir a proliferação anormal de células na raiz que altera o desenvolvimento radicular em altas concentrações de Mn (PAN et al., 2018) ou por algumas espécies possuírem mecanismos para minimizar os danos causados pela toxicidade de Mn (GILL e TUTEJA, 2010; SIEPRAWSKA et al., 2016) como apresentar maiores concentrações de Mn nas raízes do que na parte aérea (INOSTROZA-BLANCHETEAU et al., 2017) ou aumentar a produção de prolina (SIDDIQUE, KANDPAL e KUMAR, 2018).

A restrição no crescimento da parte aérea das plantas sob as doses de Mn foi um resultado atípico, sendo o Mn um elemento essencial para o aparato fotossintético, era de se esperar que estimularia o crescimento foliar. Essas concentrações de Mn provavelmente danificaram a integridade funcional do meristema apical das plantas, que diminuiu o alongamento das mesmas (CHATZISTATHIS et al., 2011). A toxicidade de Mn pode ocorrer pelo aumento da absorção de Mn nas raízes, transporte rápido para a parte aérea e acúmulo no apoplasto na forma de óxido de Mn (FÜHRS et al., 2009; SANTOS et al., 2017). O Mn é um micronutriente essencial para o desenvolvimento normal das plantas, porém, acima do limite permitido se torna tóxico (SRIVASTAVA e DUBEY, 2011; PARASHAR et al., 2014). O limite de toxicidade é dependente das espécies de plantas e genótipos (KOCHIAN et al., 2004; DUCIC e POLLE, 2005). Por exemplo, para *Eucalyptus camaldulensis* o nível de toxicidade foi 330 μmol de Mn

(REICHMAN et al., 2004), já para *Hevea brasiliensis* níveis acima de 15.000 μmol de Mn foi considerado excessivo (POONPAKDEE, KHAWMEE e ONTHONG, 2021).

O decréscimo da concentração de nutrientes nos tecidos das plantas, resultou em menor acúmulo de nutrientes e desencadeou baixa produção de massa seca da parte aérea, o que prejudicou a funcionalidade metabólica normal das plantas. Observamos que o teor de N, P, Cu e Zn ficaram abaixo da faixa considerada adequada para o bom crescimento das plantas, favorecendo os sintomas visuais (Figura 8). O excesso de Mn influencia negativamente a absorção de macro e micronutrientes, (MILLALEO et al., 2013; SIEPRAWSKA et al., 2016; SANTOS et al., 2017), pela competição de transportadores (COHEN et al., 1998; XIA et al., 2010) ou pelo efeito antagônico que tem sobre alguns íons (SANTOS et al., 2017).

A similaridade do padrão de resposta observado entre as variáveis teor de N e ICR, com faixa estimada de NCD e NCT de 0,46 a 5,55 e 0,32 a 4,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente, demonstra que a deficiência ou excesso de Mn resultou em prejuízos ao aparato fotossintético das plantas. Os valores de ICR são proporcionais a quantidade de clorofila presente no tecido da planta (EL-MOGY et al., 2019) e o N é essencial para a biossíntese da clorofila. Consequentemente, a deficiência de Mn reduz o conteúdo de clorofila o que está relacionado à taxa de fotossíntese e à produção de carboidratos (POONPAKDEE, KHAWMEE e ONTHONG, 2021). Em nosso estudo, o excesso de Mn resultou em menor absorção de N, confirmado pelo decréscimo no ICR, comprometendo o metabolismo de carbono e de N nas plantas. Essa queda ocasiona menor captação de energia luminosa que posteriormente é convertida em energia química, na forma de ATP e NADPH (AMARANTE et al., 2008; DANIEL et al., 2016). Assim, a disponibilidade de N inferior da demanda da planta afeta a estrutura e o funcionamento do aparato fotossintético (TAIZ e ZEIGER, 2013), reduzindo o crescimento da parte aérea (SANTOS et al., 2017).

A influência negativa das concentrações de Mn no aparato fotossintético das plantas é confirmada pela queda dos valores das variáveis da fluorescência da clorofila (F_v/F_m , P_i^{abs} e P_i^{total}). Esses índices indicam o potencial das plantas em realizar reações fotoquímicas no processo fotossintético (THACH et al., 2007; TAIZ e ZEIGER, 2013). A toxicidade ocasionada pelo Mn nas plantas acarreta alterações na captação de luz, no centro de reação do fotossistema II (PSII), na estrutura dos cloroplastos e na cadeia de

transporte de elétrons (LI et al., 2010; SILVA et al., 2012; MILLALEO et al., 2013; RIBERA et al., 2013; PAN et al., 2018).

No presente estudo, os valores da F_v/F_m (Figura 10c) nos tratamentos com Mn ficaram abaixo do nível crítico (0,8) (CHATZISTATHIS et al., 2010), significando que a estrutura e funcionamento dos cloroplastos foi danificado pelo fornecimento de Mn. A redução de F_v/F_m indica que a atividade potencial do PSII foi inibida, provavelmente, o excesso de Mn e o crescimento foliar reduzido alterou a captação de luz e estrutura do centro de reação PSII que inibiu a transferência de elétrons, limitando a produção de redutores equivalentes (LI et al., 2010; RIBERA et al., 2013; PAN et al., 2018).

A espécie aparenta ter uma baixa exigência de Mn nesta fase de crescimento, apresentando danos a maquinária fotossintética com um aumento de Mn. A redução do PI_{abs} e do PI_{total} (Figura 10a, b) reforça que as concentrações de Mn acarretaram em fotoinibição do PSII, ou seja, aponta que a atividade fotoquímica foi comprometida tanto no PSII quanto na cadeia transportadora (THACH et al., 2007; MILLALEO et al., 2013). A queda desses parâmetros aponta que as concentrações de Mn alteraram a transferência de elétrons transferidos aos receptores finais em relação ao número de fótons absorvidos (CHEN et al., 2011). Essa redução, além de diminuir a atividade do PSII, também ocasionou dano na estrutura e função do PSI, resultando em decréscimo do PI_{total} (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008; CHEN et al., 2011).

Observamos que o Mn ocasionou estresse nas plantas, tanto por deficiência quanto por excesso. O aumento da produção de prolina (Figura 11) demonstra que a planta investiu em um mecanismo de defesa para as condições estressantes induzidas pelo Mn, já que é um aminoácido sensível a condições adversas. A síntese de prolina influencia na formação de fitoquelatinas, que se ligam ao elemento, reduzindo sua toxicidade (SALA et al., 2021). Esse processo aumenta a tolerância das plantas por meio de regulação osmótica, eliminação de ERO's, estabilização da membrana plasmática e síntese de proteínas (ASLAM et al., 2017; SALA et al., 2021). O elevado potencial de redução de Mn leva ao acúmulo de radicais livres reativos que danificam a clorofila (PANDA, MISHRA e BISWAL 1989), promovendo danos no processo fotossintético (WENG et al., 2013; HASANUZZAMAN et al., 2019). A estratégia de inibir a toxicidade de metais pesados, como o Mn, com o aumento de prolina foi observado em experimento com *Phaseolus vulgaris* (ZENGIN, 2013), *Brassica juncea* (FARIDUDDIN et al., 2015), *Xanthium strumarium* (PAN et al., 2018) e *Cedrela fissilis* (SALA et al., 2021).

Portanto, as concentrações de Mn promoveram sintomas de deficiência e de excesso de Mn nas plantas. Isso prejudicou a absorção de nutrientes que comprometeu a fisiologia das plantas resultando em menor crescimento das plantas. No entanto, esse padrão de resposta não fica nítido para todas as variáveis estudadas e em algumas situações, a resposta das mesmas, se apresentaram contrastantes. De modo geral, a concentração crítica de deficiência e toxicidade do Mn varia muito entre as espécies (SHAO et al., 2017) e a fase de crescimento das plantas (REIS e LAVRES JUNIOR, 2011; MARSCHENR, 2012). Assim, novas pesquisas devem ser realizadas a fim de verificar o efeito do Mn em plantas com desenvolvimento mais avançado e com maior tempo de exposição aos níveis visando encontrar a dose ótima para o cultivo inicial da espécie.

5. CONCLUSÕES

Plantas de *Cedrela fissilis* são sensíveis ao manganês. Os níveis extremos de Mn reduzem o desenvolvimento inicial das plantas de *Cedrela fissilis*, mas a força da redução é dependente da variável testada. De modo geral, as concentrações críticas de deficiência e toxicidade de Mn na solução de cultivo situam em torno de 2,39 e 5,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente. No entanto, os resultados precisam ser mais estudados em plantas em estágio de desenvolvimento mais avançado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEJANDRO, S.; HÖLLER, S.; MEIER, B.; PEITER, E. 2020. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science**, 11: 300.

AMARANTE, C.V.T.; STEFFENS, C.A.; ZANARDI, O.Z.; ALVES, E.O. 2008. Quantificação de clorofilas em folhas de macieiras ‘Royal Gala’ e ‘fuji’ com métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30 (3): 590-595.

ANDRADE, M.L.F.; BOARETTO, A.E. 2019. Deficiência de micronutrientes em plantas jovens de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze. **Scientia Forestalis**, 47 (122): 303-316.

ASLAM et al. 2017. Specific role of proline against heavy metals toxicity in plants. **Int. J. Pure App. Biosci.**, 5 (6): 27-34.

BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, 39 (1): 205-207.

BUGBEE, B. G. Growth, analysis and yield components. In: SALISBURY, F. B. (Ed.). Units, symbols, and terminology for plant physiology. Oxford: Oxford University, 1996.

CHATZISTATHIS, T. A.; PAPADAKIS, I. E.; THERIOS, I. N.; GIANNAKOULA, A.; DIMASSI, K. 2011. Is chlorophyll fluorescence technique a useful tool to assess manganese deficiency and toxicity stress in olive plants? **Journal of Plant Nutrition**, 34:98–114.

CHATZISTATHIS, T.A.; PAPADAKIS, I.E.; THERIOS, I.N.; GIANNAKOULA, A.; DIMASSI, K. 2010. Is chlorophyll fluorescence technique a useful tool to assess manganese deficiency and toxicity stress in olive plants? **Journal of Plant Nutrition**, 34 (1): 98-114. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2011.531362>

CHEN, L.S.; QI, Y.P.; JIANG, H.X.; YANG, L.T.; YANG, G.H. 2010. Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. **African Journal of Biotechnology**, 9 (54): 9237-9247.

CHEN, N.; ZHOU, F.; YIN, C.; STRASSER, R.J.; YANG, C.; QIANG, S. 2011. Application of fast chlorophyll fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid. **Environmental and Experimental Botany**, 73: 31-41.

COHEN, C.K.; FOX, T.C.; GARVIN, D.F.; KOCHIAN, L.V. 1998. The role of iron deficiency stress responses in stimulating heavy-metal transport in plants. *Plant Physiol* 116:1063–1072.

CUSATIS, A.C.; MARTINEZ, D.T.; SILVA, L.D.; HIGA, A.R. 2016. Genetic diversity of *Cedrela fissilis* (Vell.): insights on conservation and production. **Scientia Forestalis**, 44 (112): 947-957.

DANIEL, E.S.; AMARANTE, C.V.T.; MARTIN, M.S.; MIQUELLUTI, D.J. CAMPOS, M.L. 2016. Relação entre o teor absoluto e relativo de clorofila em folhas de vimeiro. **Ciência Florestal**, 26 (1): 307-312.

DAVANSO, V.M.; SOUZA, L.A.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A.; BIANCHINI, E. 2002. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 45 (3).

DICKSON, A.; LEAF, A.L.; HOSNER, J.F.1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, 36 (1): 10-13.

DUCIC, T.; POLLE, A. 2005. Transport and detoxication of manganese and copper in plants. **Braz. J. Physiol.**, 17 (1): 103-112.

DZIWORNU, A.K.; SHRESTHA, A.; MATTHUS, E.; ALI, B.; FREI, M. 2018. Responses of contrasting rice genotypes to excess manganese and their implications for lignin synthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123: 252–259.

EL-MOGY, M.M.; MAHMOUD, A.W.M.; EL-SAWY, M.B.I.; PARMAR, A. 2019. Pre-Harvest Foliar Application of Mineral Nutrients to Retard Chlorophyll Degradation and Preserve Bio-Active Compounds in Broccoli. **Agronomy**, 9: 711.

FARIDUDDIN, Q.; AHMED, M.; MIR, B.A.; YUSUF, M.; KHAN, T. 2015. 24-Epibrassinolide mitigates the adverse effects of manganese induced toxicity through improved antioxidant system and photosynthetic attributes in *Brassica juncea*. **Environ Sci Pollut Res.**, 22: 11349–11359.

FUHRS et al. 2009. Characterization of leaf apoplastic peroxidases and metabolites in *Vigna unguiculata* in response to toxic manganese supply and silicon. **Journal of Experimental Botany**, 60 (6): 1663–1678.

GILL, S.S., TUTEJA, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48, 909–930.

GONÇALVES, E.O. et al. 2012. Nutrição de mudas de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) submetidas a doses de N, P, K, Ca E Mg. **Revista Árvore**, 36 (2): 219-228.

HASANUZZAMAN, M. et al. 2019. Regulation of Ascorbate-Glutathione Pathway in Mitigating Oxidative Damage in Plants under Abiotic Stress. **Antioxidants**, 8 (9): 384.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. 1950. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: **California Agricultural Experimental Station**, 347.

HOCH, L.; POKORNY, B.; JONG, W. 2009 How successful is tree growing for smallholders in the Amazon? **International Forestry Review**, 11 (3).

HUANG Y. L. et al. 2016. Manganese Toxicity in Sugarcane Plantlets Grown on Acidic Soils of Southern China. **Plos One**, **11(3)**: 1-18.

INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; REYES-DIAZ, M.; BERRIOS, G.; SALVADOR, A.R.; NUNES-NESE, A.; DEPPE, M.; DEMANET, R.; RENGEL, Z.; ALBERDI, M. 2017. Physiological and biochemical responses to manganese toxicity in ryegrass (*Lolium perenne* L.) genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, 113: 89 - 97.

KEEFE, K.; ALAVALAPATI, J.A.A.; PINHEIRO, C. 2012. Is enrichment planting worth its costs? A financial cost-benefit analysis. **Forest Policy and Economics**, 23: 10-16.

KOCHIAN, L.V.; PIÑEROS, M.A.; LIU, J.; MAGALHAES, J.V. 2015. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annu. Rev. Plant Biol.** 66, 571–598.

KOENKER, R.; BASSETT, G. 1978. Regression Quantiles. **Econometrica**, 46 (1): 33–50.

KOENKER, R.; BASSETT, G. 1982. Robust Tests for Heteroscedasticity Based on Regression Quantiles. **Econometrica**, 50 (1): 43–61.

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

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. 1952. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47 (260): 583–621.

LEHMANN, S.; FUNCK, D.; SZABADOS, L. DORIS. 2010. Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**, 39:949–962.

LEITE, M. L.; VIRGENS FILHO, J. S.; RODRIGUES, J. D. 2000. Variação dos níveis de prolina em folhas de caupi (*Vigna unguiculata*(L.) Walp) submetido a diferentes déficits hídricos. **Biotemas**, 13 (1): 21-33.

LEVENE, H. 1960. In *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, I. Olkin et al. eds., Stanford University Press, pp. 278-292

LI, Q. CHEN, L.; JIANG, H.X.; TANG, N.; YANG, L.T.; LIN, Z.H.; LI, Y.; YANG, G.H. 2010. Effects of manganese-excess on CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron

transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in *Citrus grandis* seedlings. **BMC Plant Biology**, 10:42.

MADHUMITA, J.M.; SHARMA, A. 1991. Manganese in cell metabolism of higher plants. **Rev Bot.**, 57 (2): 117-149.

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

MANN, H. B.; WHITNEY, D. R. 1947. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. **The Annals of Mathematical Statistics**, 18 (1): 50–60.

MARSCHNER, H. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3. ed. London: Academic Press, 2012.

MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; ALBERDI, M.; IVANOV, A.G.; KROL, M.; HÜNER, N.P.A. 2013. Excess manganese differentially inhibits photosystem I versus II in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, 64 (1): 343–354.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N.K. 2009. Soil Chemical Attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 40 (17-18): 2912-2925.

NOGUEIRA et al. 2020. Chemical Compounds and Biologic Activities: A Review of *Cedrela* Genus. **Molecules**, 25: 5401.

PAN, G.; LIUA, W.; ZHANGA, H.; LIU, P. 2018. Morphophysiological responses and tolerance mechanisms of *Xanthium strumarium* to manganese stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 165: 654–661.

PANDA, S.; MISHRA, A.K.; BISWAL, U.C. 1989. Manganese induced peroxidation of thylakoid lipids and changes in chlorophyll- α fluorescence during aging of cell free chloroplasts in light. **Photochem.**, 26: 3217–3219.

PARASHAR, A.; YUSUF, M. FARIDUDDIN, Q.; AHMAD, A. 2014. Salicylic acid enhances antioxidant system in *Brassica juncea* grown under different levels of manganese. **International Journal of Biological Macromolecules**, 70 551–558.

PLATH, M. et al. 2011. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed species plantations: small-scale effects on tree performance and insect herbivory. **Forest Ecology and Management**, 261: 741-750.

POONPAKDEE, C.; KHAWMEE, K.; ONTHONG, J. 2021. Toxic symptoms in rubber tree sapling and its response to manganese application. **Maejo Int. J. Sci. Technol.**, 15 (01): 1-12.

REHMUS, A.; BIGALKE, M.; VALAREZO, C.; CASTILLO, J.M.; WILCKE, W. 2015. Aluminum toxicity to tropical montane forest tree seedlings in southern Ecuador: Response of nutrient status to elevated Al concentrations. **Plant Soil**, 388: 87–97.

REICHMAN, S.M.; MENZIES, N.W.; ASHER, C.J.; MULLIGAN, D.R. 2004. Seedling responses of four Australian tree species to toxic concentrations of manganese in solution culture. **Plant and Soil**, 258: 341–350.

REIS, A.R.; LAVRES JUNIOR, J., 2011. Genotypic influence on the absorption, use and toxicity of manganese by soybean. In: Sudaric, A. (Ed.), Soybean e Molecular Aspects of Breeding. Intech Publisher, Croatia, pp. 241e258.

RENÓ, N. B. et al. 1997. Limitações nutricionais ao crescimento inicial de quatro espécies arbóreas nativas em Latossolo Vermelho-Amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32 (1): 17-25.

RIBERA, A.E.; REYES-DIAZ, M.M.; ALBERDI, M.R.; ALVAREZ-CORTEZ, D.A.; RENGEL, Z.; MORA, M.L. 2013. Photosynthetic impairment caused by manganese toxicity and associated antioxidative responses in perennial ryegrass. **Crop & Pasture Science**, 64: 696–707.

SALA, H.R.; SUKERT, D.S.; VIEIRA, W.L.; MORO, A.L.; REIS, I.B.; BERTOLI, S.C 2021. Different cadmium levels alter growth and antioxidant defense response in *Cedrela fissilis* and *Colubrina glandulosa*. **Flora**, 276-277.

SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E.; CABRAL, C. 2003. Influência do boro e do manganês no crescimento e na composição mineral de mudas de goiabeira. **Ciênc. agrotec.**, 27 (2): 325-331.

SANCHES, M.C.; MARZINEK, J; BRAGIOLA, N.G.; NASCIMENTO, A.R.T. 2017. Morpho-physiological responses in *Cedrela fissilis* Vell. Submitted to changes in natural light conditions: implications for biomass accumulation. **Trees**, 31: 215–227.

SANTOS, E. F. et al. 2017. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, 113: 6-19.

SCHULZE, M. 2008. Technical and financial analysis of enrichment planting in logging gaps as a potential component of forest management in the eastern Amazon. **Forest Ecology and Management**, 255: 866-879.

SHAO, J.F.; YAMAJI, N.; SHEN, R.F.; MA, J.F. 2017. The Key to Mn Homeostasis in Plants: Regulation of Mn Transporters. **Trends in Plant Science**, 22 (3).

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete sample). **Biometrika**, 52 (3): 591-611.

SIDDIQUE, A.; KANDPAL, G.; KUMAR, P. 2018. Proline Accumulation and its Defensive Role Under Diverse Stress Condition in Plants: An Overview. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, Vol. 12 (3): 1655-1659.

SIEPRAWKA, A.; FILEK, M.; TOBIASZ, A.; WALAS, S.; ADAMSKA, D.D.; GRYGO-SZYMANKO, E. 2016. Trace elements' uptake and antioxidant response to excess of manganese in in vitro cells of sensitive and tolerant wheat. **Acta Physiol Plant**, 38:55.

SILVA, A.J.; NASCIMENTO, C.W.A.; GOUVEIA-NETO, A.S.; SILVA-JR, E.A. 2012. LED-induced chlorophyll fluorescence spectral analysis for the early detection and monitoring of cadmium toxicity in maize plants. **Water Air Soil Pollut.**, 223: 3527-3533.

SRIVASTAVA, S.; DUBEY, R.S. 2011. Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings. **Plant Growth Regul.**, 64: 1-16.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GIANG S.; GOLTSEV, V. 2010. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Bioenergetics* 1797: 1313-1326.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2013. 917 p.

THACH, L.B.; SHAPCOTT, A.; SCHMIDT, S.; CRITCHLEY, C. 2007. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. **Photosynthesis Research**, 94: 423-436.

TSIMILLI-MICHAEL M.; STRASSER, R.J. *In vivo* assessment of plant's vitality: applications in detecting and evaluating the impact of mycorrhization on host

plants. In: VARMA, A. (Ed.). **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics, and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure, and Systematics**, 3rd edition Springer, Dordrecht, p. 679-703, 2008.

WEBB, M.J.; REDDELL, P.; HAMBLETON, A.; ROBSON, K. 2000. Growth response of four tropical plantation timber species to increasing phosphorus supply and assessment of phosphorus requirements using foliar analysis. *New Forests* 20:193-211 doi: 10.1023/A:1006756105284

WENG, X.Y., ZHAO, L.L., ZHENG, C.J., ZHU, J.W., 2013. Characteristics of the hyperaccumulator plant *Phytolacca acinosa* (phytolaccaceae) in response to excess manganese. **J. Plant Nutr.** 36, 1355e1365.

XIA, J.; YAMAJI, N.; KASAI, T.; MA, J.F. 2010. Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. **Proc Natl Acad Sci**, 107:18381–18385.

YAO, Y.; XU, G.; MOU, D.; WANG, J.; MA, J. 2012. Subcellular Mn compartation, anatomic and biochemical changes of two grape varieties in response to excess manganese. **Chemosphere**, 89: 150–157.

ZENGIN, F. 2013. Biochemical and Physiological Effect of Excess Manganese (Mn) in Bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike). **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 83(4): 651–657.

ZEUGIN, F.; POTVIN, C.; JANSA, J.; SCHERER-LORENZEN, M. 2010. Is tree diversity an important driver for phosphorus and nitrogen acquisition of a young tropical plantation? **Forest Ecology and Management**, 260: 1424-1433.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cedro (*Cedrela fissilis*) é uma das espécies madeireiras de grande importância nacional e internacional, entretanto, as informações relacionadas com o manejo nutricional dessa espécie na fase inicial de desenvolvimento são incipientes. A espécie foi incluída na Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçada de Extinção pelo Decreto nº 443 do Ministério do Meio Ambiente de 17 de dezembro de 2014. O cedro ocorre em regiões tropicais e subtropicais, onde predomina solos ácidos e que o Al e Mn podem ocorrer em níveis tóxicos as plantas. Nesse sentido, buscamos conhecer o efeito das concentrações de Al e Mn no desenvolvimento inicial de plantas de *C. fissilis*.

As concentrações de Al comprometem seriamente o incremento das raízes ocasionando desequilíbrio nutricional, fisiológicos e sintomas visuais de toxicidade. Assim, reduz o crescimento das plantas. O nível crítico de toxicidade situa na faixa de 38 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al na solução de cultivo.

As doses de Mn inibem o crescimento das plantas, promovem sintomas de deficiência, até doses de 3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, e de excesso, em doses acima de 9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn nas plantas. Isso prejudica a absorção de nutrientes, comprometendo o crescimento das plantas. No entanto, esse padrão de resposta não fica nítido para todas as variáveis estudadas e em algumas situações a resposta das mesmas foram contrastantes. De modo geral, as concentrações críticas de deficiência e toxicidade de Mn na solução de cultivo situam em torno de 2,39 e 5,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Mn, respectivamente.

Os resultados obtidos, neste estudo, contribuem para o melhor conhecimento da demanda nutricional do cedro, visando o manejo adequado para o cultivo inicial da espécie. No entanto, novas pesquisas devem ser realizadas em plantas em estágio de desenvolvimento mais avançado, com maior tempo de exposição aos níveis destes elementos.