

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

**ALUMÍNIO E MANGANÊS: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DO GUARANAZEIRO**

JOÃO CLEBER CAVALCANTE FERREIRA

MANAUS – AM
2026

JOÃO CLEBER CAVALCANTE FERREIRA

**ALUMÍNIO E MANGANÊS: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DO GUARANAZEIRO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Área de Concentração em Produção Vegetal, Linha de pesquisa em nutrição de plantas, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do grau de Doutor em Agronomia Tropical.

Orientador: Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos

MANAUS - AM
2026

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F383a	Ferreira, João Cleber Cavalcante Alumínio e manganês: efeitos no desenvolvimento inicial do guaranazeiro / João Cleber Cavalcante Ferreira. - 2026. 103 f. : il., p&b. ; 31 cm. Orientador(a): José Zilton Lopes Santos. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Manaus, 2026. 1. Paullinia cupana (guaranazeiro). 2. Toxicidade por Al e Mn. 3. Fotossistema II. 4. Acúmulo de prolina. 5. Eficiência nutricional. I. Santos, José Zilton Lopes. II. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical. III. Título
-------	--

JOÃO CLEBER CAVALCANTE FERREIRA

ALUMÍNIO E MANGANÊS: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO GUARANAZEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Área de Concentração em Produção Vegetal, Linha de pesquisa em nutrição de plantas, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do grau de Doutor em Agronomia Tropical.

Aprovado em 26 de junho de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 JOSE ZILTON LOPES SANTOS
Data: 08/07/2026 20:57:10-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos - (Presidente)
Universidade Federal do Amazonas

Documento assinado digitalmente
 NEWTON PAULO DE SOUZA FALCAO
Data: 29/07/2026 03:26:28-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. Newton Paulo de Souza Falcão
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Documento assinado digitalmente
 JOSINALDO LOPES ARAUJO ROCHA
Data: 21/07/2026 09:26:56-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha
Universidade Federal de Campina Grande

Documento assinado digitalmente
 MARIA DO ROSARIO LOBATO RODRIGUES
Data: 15/07/2026 00:01:39-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dra. Maria do Rosário Lobato Rodrigues
Embrapa Amazônia Ocidental

Documento assinado digitalmente
 LAUANA LOPES DOS SANTOS
Data: 09/07/2026 21:46:48-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dra. Lauana Lopes dos Santos
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Jocélia de Souza Cavalcante, que com coragem e sacrifício me possibilitou deixar a zona rural, onde as oportunidades eram escassas e as condições de ascensão social limitadas. Graças ao seu esforço e dedicação, pude estudar na cidade e trilhar meu caminho em busca do conhecimento, tornando realidade um sonho que também é seu.

Ao meu pai, Cláudio, que sempre foi o provedor de nossa casa e, junto de minha mãe, garantiu que nunca nos faltasse nada. Desde cedo me ensinou o valor do trabalho árduo, da perseverança e da capacidade de enxergar oportunidades onde muitos apenas veem obstáculos.

Aos meus avós, Maria Deuza, José Maria Cavalcante e Trindade Cruz, pelas orações, conselhos e ensinamentos que sempre me guiaram, e por acreditarem na educação como força transformadora para um futuro melhor.

Aos meus sogros, Rômulo e Maria da Saúde, pela presença constante, pelo incentivo e por integrarem minha vida com carinho.

À minha esposa, Rafaelle Aoki, que esteve presente em cada etapa desta jornada, oferecendo amor, apoio e força nos momentos mais desafiadores. Sua paciência, incentivo e companheirismo foram fundamentais para que eu pudesse seguir em frente e alcançar esta conquista.

Às minhas tias, Patrícia Cavalcante e Claudina Cruz, que contribuíram de forma decisiva para minha formação escolar e acadêmica, oferecendo apoio, incentivo e ajuda generosa nos momentos em que mais precisei.

Aos meus verdadeiros, sinceros e seletos amigos, que torceram pelo meu sucesso, e a todas as pessoas que, de alguma forma, me incentivaram e contribuíram para esta caminhada.

“Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser descoberto. A ciência é uma maneira de pensar muito mais do que um corpo de conhecimentos”.

V
Carl Sagan

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, paciência e direção em cada etapa desta caminhada, sem ele nada disso seria possível.

À minha companheira, Rafaelle Aoki, pelo apoio incondicional durante todo o período de pós-graduação e pela presença constante em minha vida.

À minha família, por todo amor, incentivo e compreensão, especialmente nos momentos de maior desafio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos, pela orientação, apoio, amizade, estímulo e, principalmente, pelo privilégio de fazer parte de sua equipe de pesquisa.

Aos amigos dos Laboratórios de Nutrição Mineral de Plantas (Marcelo Nunes, Alan Ferreira, João Paulo e Lilian Clara) e de Mineralogia do Solo (Wildson Benedito), minha sincera gratidão pelo apoio e contribuição ao andamento do projeto, pela dedicação incansável na instalação dos experimentos e pelo trabalho conjunto em laboratório.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Prof. Dr. André Atroch, da Embrapa, pela disponibilização das mudas de guaranazeiro, e ao Prof. Dr. Adolfo Mota, pela gentileza em disponibilizar o uso dos equipamentos de seu laboratório.

Ao Laboratório de Silvicultura, representado por seu coordenador, Dr. Marciel José Ferreira, e pelo doutorando à época, André Bueno, pela colaboração e apoio prestados com equipamentos fotossintéticos.

Ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, representado pela Prof^a Dr^a Jânia Lília da Silva Bentes, e aos colegas do NUSEC/UFAM, Tassia Michelli Nogueira e Anselmo Levy, pela colaboração e apoio nos trabalhos práticos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Assim como, foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), por meio da concessão de recursos diretos e indiretos ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical.

Enfim, expresso minha gratidão a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização desta tese.

RESUMO GERAL

Em solos ácidos, a disponibilidade de alumínio (Al) e manganês (Mn) aumenta, intensificando seus efeitos fitotóxicos sobre o metabolismo vegetal. Embora os mecanismos de toxicidade desses elementos sejam descritos em diversas espécies de interesse agrônomo, seus impactos isolados no crescimento inicial do guaranazeiro permanecem pouco elucidados. Para suprir essa lacuna, foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação para avaliar o efeito de concentrações crescentes de Al e Mn sobre respostas fisiológicas, bioquímicas, nutricionais e anatômicas. No primeiro estudo, avaliou-se o efeito de cinco níveis de Al no solo (0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 cmol_c dm⁻³) sobre o desenvolvimento inicial da cultivar de guaranazeiro BRS-Noçoquém. No segundo estudo, avaliou-se a combinação fatorial entre seis níveis de Mn (0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 dm⁻³) e duas cultivares de guaranazeiro, BRS-Amazonas (CMU-300) e BRS-Maués (CMU-871). Em ambos os estudos, as plantas foram cultivadas em vasos, em delineamento inteiramente casualizado, com uma planta por unidade experimental, sendo o primeiro conduzido com cinco repetições (25 plantas) e o segundo com quatro repetições (48 plantas). No primeiro estudo, a toxidez por Al na cv. BRS-Noçoquém reduziu significativamente a biomassa, sobretudo radicular, e promoveu alterações anatômicas, como espessamento do xilema e redução do floema. O estresse também comprometeu o estado nutricional das plantas, reduzindo o teor e o acúmulo de P e Cu em folhas e raízes, de Ca, Mg e Fe nas folhas, e de Mn nas raízes, restringindo a translocação de Ca para as folhas e, ao mesmo tempo, aumentando o acúmulo de prolina e a eficiência de uso de P. No segundo estudo, o excesso de Mn reduziu o crescimento e alterou o equilíbrio nutricional das cvs. CMU-300 e CMU-871, principalmente a partir de 10 mg dm⁻³ de Mn no solo, com respostas genótipo-dependentes. A cv. CMU-871 demonstrou maior tolerância, mantendo desempenho fotoquímico superior (F_v/F_m , PI_{abs} , PI_{total}), maior eficiência nutricional e acúmulo de prolina, sobretudo nas raízes, enquanto a cv. CMU-300 concentrou mais Mn nas folhas e apresentou menor desempenho fisiológico. Em conjunto, os resultados evidenciam que a fitotoxidez de Al e Mn atuam por mecanismos distintos: o Al compromete de forma mais acentuada o crescimento e a arquitetura radicular, enquanto o Mn afeta predominantemente a fisiologia foliar. As cultivares avaliadas mostraram sensibilidade ao excesso desses elementos, ainda que com respostas diferenciadas, adotando estratégias de manutenção metabólica por meio de ajustes bioquímicos e nutricionais.

Palavras-chave: *Paullinia cupana*, toxicidade por Al e Mn, fotossistema II, acúmulo de prolina e eficiência nutricional.

GENERAL ABSTRACT

In acidic soils, the availability of aluminum (Al) and manganese (Mn) increases, intensifying their phytotoxic effects on plant metabolism. Although several studies have described the toxicity mechanisms of these elements in agronomically important species, their isolated effects on the initial growth of guarana remain poorly understood. To address this knowledge gap, we conducted two greenhouse experiments to evaluate the effects of increasing Al and Mn concentrations on physiological, biochemical, nutritional, and anatomical responses. In the first study, we evaluated the effects of five soil Al levels (0, 1.0, 2.0, 3.0, and 4.0 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) on the initial development of the guarana cultivar BRS-Noçoquém. In the second study, we evaluated the factorial combination of six Mn levels (0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, and 40.0 mg dm^{-3}) and two guarana cultivars, BRS-Amazonas (CMU-300) and BRS-Maués (CMU-871). We grew the plants in pots under a completely randomized design, with one plant per experimental unit, using five replicates in the first study (25 plants) and four replicates in the second study (48 plants). In the first study, Al toxicity in the cultivar BRS-Noçoquém significantly reduced biomass, particularly root biomass, and caused anatomical changes, including xylem thickening and phloem reduction. The stress also impaired the nutritional status of the plants by reducing the concentration and accumulation of P and Cu in leaves and roots, Ca, Mg, and Fe in leaves, and Mn in roots, while restricting Ca translocation to the leaves and increasing proline accumulation and P use efficiency. In the second study, excess Mn reduced growth and altered the nutritional balance of the cultivars CMU-300 and CMU-871, mainly from 10 mg dm^{-3} Mn in the soil onward, with genotype-dependent responses. The cultivar CMU-871 showed greater tolerance, maintaining higher photochemical performance (F_v/F_m , PI_{abs} , and PI_{total}), greater nutrient-use efficiency, and higher proline accumulation, particularly in the roots, whereas cultivar CMU-300 accumulated more Mn in the leaves and exhibited lower physiological performance. Overall, the results demonstrate that Al and Mn phytotoxicity act through distinct mechanisms: Al more strongly impairs root growth and architecture, whereas Mn predominantly affects leaf physiology. The evaluated cultivars showed sensitivity to excess levels of these elements, although they exhibited distinct responses and adopted metabolic maintenance strategies through biochemical and nutritional adjustments.

Keywords: *Paullinia cupana*, Al and Mn toxicity, Photosystem II, Proline accumulation and nutrient-use efficiency.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1.** Acúmulo de nitrogênio (AN) (A), fósforo (AP) (B), cálcio (ACa) (C) e magnésio (AMg) (D) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. 19
- Figura 2.** Acúmulo de cobre (ACu) (A), ferro (AFé) (B) e zinco (AZn) (C) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. 20
- Figura 3.** Acúmulo de fósforo (AP) (A), magnésio (AMg) (B), enxofre (AS) (C), cobre (ACu) (D) e manganês (AMn) (E) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de Al..... 21
- Figura 4.** Teores de nitrogênio (N) (A), fósforo (P) (B), cálcio (Ca) (C) e magnésio (Mg) (D) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio..... 23
- Figura 5.** Teores de ferro (Fe) (A), zinco (Zn) (B), cobre (Cu) (C), manganês (Mn) (D) e boro (B) (E) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio 24
- Figura 6.** Teores de nitrogênio (N) (A), fósforo (P) (B) e cálcio (Ca) (C) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. 25
- Figura 7.** Teores de cobre (Cu) (A), zinco (Zn) (B), manganês (Mn) (C) e boro (B) (D) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. 26
- Figura 8.** Eficiência de absorção de nitrogênio (EAN) (A), cálcio (EACa) (B) e potássio (EAK) (C) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio..... 27
- Figura 9.** Eficiência de absorção de boro (EAB) (A), manganês (EAMn) (B), zinco (EAZn) (C), ferro (EAFe) (D) e cobre (EACu) (E) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al 28
- Figura 10.** Eficiência de utilização de potássio (EUK) (A), nitrogênio (EUN) (B), fósforo (EUP) (C) e cálcio (EUCa) (D) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al. 29
- Figura 11.** Eficiência de utilização de boro (EUB) (A), manganês (EUMn) (B) e zinco (EUZn) (C) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al. 30

Figura 12. Eficiência de translocação de cálcio (ETCa) (A), enxofre (ETS) (B), ferro (ETFe) (C) e cobre (ETCu) (D) em <i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al.	31
Figura 13. (A) eficiência de translocação para folhas (%), (B) acúmulo de Al nas folhas por planta (g·planta ⁻¹), (C) concentração de Al nas raízes (g·kg ⁻¹) e (D) concentração de Al nas folhas (g·kg ⁻¹) em função dos teores de alumínio no solo (n = 5)	32
Figura 14. Aparência visual das plantas (fileira superior - vista lateral), folhas (fileira intermediária - vista superior) e raízes (fileira inferior) de guaranazeiro cv. BRS Noçoquém sob diferentes concentrações de Al registradas aos 240 dias.....	33
Figura 15. Teor de prolina nas raízes de <i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de Al.....	34
Figura 16. Massa seca total (MST) (A), massa seca de raízes (MSR) (B), taxa de crescimento relativo em diâmetro (TCR diâmetro) (C), taxa de crescimento relativo em altura (TCR altura) (D), volume de raízes (E) e área foliar (F) de <i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> c.....	35
Figura 17. Caracterização morfológica e anatômica do sistema radicular de plantas de guaranazeiro cv. Noçoquém cultivadas sob concentrações crescentes de alumínio no solo	37
Figura 18. Espessura média dos tecidos vasculares radiculares (floema e xilema) de plantas de guaranazeiro cultivadas sob diferentes doses de alumínio no solo (0, 1, 2, 3 e 4 cmol _c dm ⁻³ de Al).....	38
Figura 19. Morfologia foliar e organização anatômica de folhas de plantas de guaranazeiro cv. Noçoquém cultivadas sob diferentes concentrações de Al no solo.....	40
Figura 20. Diâmetro da nervura central (A) e espessura do parênquima paliádico e do parênquima esponjoso (B) em folhas de <i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> cv. BRS Noçoquém submetidas a 0, 1, 2, 3 e 4 cmol _c dm ⁻³ de Al.	41
Figura 21. Biplot da análise de componentes principais (PCA) de (<i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> cv. BRS Noçoquém) submetidas a concentrações crescentes de alumínio.	42
Figura 22. Análise discriminante canônica (CDA) de <i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> cv. BRS Noçoquém submetidas a concentrações crescentes de alumínio.....	43

Capítulo 2

Figura 1. Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre o acúmulo (A, B) e teor de Mn nas folhas (C, D) de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, após 250 dias de exposição.....	73
Figura 2. Acúmulo de nitrogênio - N (A, B), fósforo - P (C, D), potássio - K (E, F) e cálcio - Ca (G, H) nas folhas de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias	74

Figura 3. Acúmulo de Mg (A), S (B), Zn (C), B (D), Fe (E, F) e Cu (G, H) nas folhas de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias.	75
Figura 4. Concentração de nitrogênio - N (A), cálcio - Ca (B), magnésio - Mg (C), enxofre - S (D), boro - B (E) e ferro - Fe (F) nas folhas de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias.	76
Figura 5. Concentração de fósforo - P (A, B), cobre - Cu (C, D), zinco - Zn (E, F) e ferro - Fe (G, H) nas folhas de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias.	78
Figura 6. Aparência visual das plantas inteiras e dos recortes foliares representativos (segunda e quarta fileiras) das cultivares de guaranazeiro BRS-Amazonas (CMU-300) e BRS-Maués (CMU-871) submetidas a doses crescentes de Mn	79
Figura 7. Sintomas típicos de toxicidade por Mn e deficiência induzida de Fe em guaranazeiro.....	80
Figura 8. Eficiência de uso de Mn em <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias.....	81
Figura 9. . Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> em folhas de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , após 250 dias de exposição.	82
Figura 10. Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre o teor de prolina em raízes (A, B) e folhas (C, D) de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, após 250 dias de exposição.....	83
Figura 11. Variáveis de crescimento de <i>P. cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias.....	84
Figura 12. Biplot da análise de componentes principais (PCA) das variáveis de crescimento, fluorescência da clorofila <i>a</i> , prolina e nutrição mineral de duas cultivares de guaranazeiro submetidas a concentrações crescentes de Mn.	86

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS	3
CAPÍTULO 1. Toxidez por alumínio em guaranazeiro cv. brs-noçoquém: respostas de crescimento, anatômicas, bioquímicas e nutricionais.....	8
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Condições de cultivo e material vegetal	12
2.2 Tratamentos e delineamento experimental	13
2.3 Adubação básica	13
2.4 Variáveis analisadas	15
2.4.1 Determinação do teor de prolina	15
2.4.2 Análises anatômicas nos tecidos radiculares e foliares	15
2.4.2.1 <i>Microscopia óptica</i>	16
2.4.3 Parâmetros nutricionais	16
2.4.3.1 <i>Sintomatologia, conteúdo e acúmulo de nutrientes</i>	16
2.4.4 Índices de eficiência nutricional	16
2.4.5 Parâmetros de crescimento	17
2.5. Análise estatística dos dados.....	17
3. RESULTADOS	18
3.1 Acúmulo de nutrientes nas folhas e raízes	18
3.2 Concentração de nutrientes nas folhas e raízes	21
3.3 Eficiência nutricional	26
3.3.1 <i>Eficiência de absorção de nutrientes (EAN)</i>	26
3.3.2 <i>Eficiência de uso de nutrientes (EUN)</i>	28
3.3.3 <i>Eficiência de translocação de nutrientes (ETN)</i>	30
3.4 Teor, acúmulo e translocação de Al nas plantas.....	31
3.5 Sintomas da toxidez por Al nas plantas	32
3.6 Teor de prolina	33
3.7 Variáveis de crescimento	34
3.8 Morfologia e anatomia das raízes de plantas	35
3.9 Aspectos morfológicos e anatômicos de folíolos de guaranazeiro	38
3.10 Análise multivariada	41
4. DISCUSSÃO	43
4.1 Crescimento e sistema radicular	44
4.2 Retenção radicular de Al e prolina como resposta ao estresse.....	46
4.3 Alterações no teor e acúmulo de nutrientes sob toxidez por alumínio	47

4.4 Eficiência de absorção (EA), utilização (EU) e translocação de nutrientes (ET) sob toxidez por Al^{3+}	49
4.5 Alterações anatômicas em raízes e folhas.....	51
4.6 Integração das respostas multivariadas, limitações e perspectivas	52
5. CONCLUSÕES.....	53
6. REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO 2. Respostas morfofisiológicas e bioquímicas à toxidez do manganês em cultivares de guaranazeiro (<i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i>).....	63
1. INTRODUÇÃO	65
2. MATERIAL E MÉTODOS	66
2.1 Material vegetal e condições de cultivo	66
2.2 Tratamentos e delineamento experimental	67
2.3 Adubação básica	68
2.4 Variáveis analisadas	69
2.4.1 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	69
2.4.2 Determinação do teor de prolina	70
2.4.3 Parâmetros nutricionais	70
2.4.3.1 Sintomatologia, teor e acúmulo de macro e micronutrientes nas plantas .	70
2.4.4 Eficiência do uso de Mn	71
2.4.5 Área foliar e biomassa seca	71
2.4.6 Análise estatística.....	71
3. RESULTADOS	72
3.1. Acúmulo e teor de manganês nas folhas.....	72
3.2 Acúmulo de nutrientes nas folhas	73
3.3 Concentração de nutrientes nas folhas	76
3.4 Sintomatologia nutricional.....	78
3.5 Eficiência do uso de Mn	80
3.6 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	81
3.7 Acúmulo de prolina nas folhas e raízes	82
3.8 Área foliar e produção de biomassa.....	83
3.9 Análise multivariada	85
4. DISCUSSÃO	86
4.1 O excesso de Mn reduz a biomassa e a área foliar do guaranazeiro.....	87
4.2 O excesso de Mn altera o estado nutricional do guaranazeiro e induz sintomas foliares	88
4.3 A tolerância ao Mn envolve estabilidade fotoquímica, eficiência de uso e ajuste bioquímico.....	90

4.4 A análise multivariada evidencia a separação entre genótipos sob estresse por Mn	93
5. CONCLUSÕES.....	93
6. REFERÊNCIAS	94

1. INTRODUÇÃO GERAL

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke), pertencente à família Sapindaceae, é uma espécie dicotiledônea tropical nativa da Amazônia brasileira (Atroch & Nascimento Filho, 2018; Nina et al., 2021). De hábito arbustivo e trepador, destaca-se pelo elevado valor socioeconômico, derivado das propriedades físico-químicas de suas sementes, que contêm até cinco vezes mais cafeína que o café (Dalonso & Petkowicz, 2012; Schimpl et al., 2013). Em virtude desse potencial, o guaraná é amplamente processado pelas indústrias farmacêutica e de bebidas em produtos como energéticos, extratos e pós-solúveis (Filoche & Pinton, 2014; Yonekura et al., 2016). Embora a maior parte da produção seja consumida no mercado interno, o aumento recente das exportações consolida a cultura como um pilar estratégico para a agricultura regional (Plácido Júnior et al., 2015).

Apesar da relevância socioeconômica, a produtividade do guaranazeiro no Amazonas permanece aquém do seu potencial biológico, reflexo da limitada adoção de tecnologias de manejo e, fundamentalmente, das severas restrições edáficas dos ecossistemas de terra firme. Nessas áreas, predominam Argissolos e Latossolos, que representam cerca de 45% e 26% dos solos da região, respectivamente (Maia & Marmo, 2010; Quesada et al., 2011). De modo geral, esses solos apresentam baixa fertilidade natural, acidez elevada, baixa saturação por bases e maior disponibilidade de elementos potencialmente tóxicos, como Al^{3+} e Mn^{2+} . Sob tais condições, o estresse metálico pode comprometer a arquitetura radicular e a homeostase mineral, desencadeando um efeito em cascata que limita a absorção hídrico-nutricional e o desempenho fisiológico da cultura (Moreira & Fageria, 2009; Batista, 2014).

A exploração agrícola de solos extremamente ácidos representa um desafio relevante para os produtores, pois a acidificação altera a dinâmica química do solo e aumenta a disponibilidade de íons tóxicos, como H^+ , Al^{3+} e Mn^{2+} (Foy, 1984; Läuchli & Grattan, 2012). Em solos tropicais, Al^{3+} e Mn^{2+} destacam-se entre os principais fatores limitantes ao crescimento vegetal, por interferirem em processos fisiológicos, bioquímicos e nutricionais (Foy, 1984; Cristancho et al., 2014; Che, Zhao & Shen, 2023).

Embora o Al, ocorra majoritariamente em formas pouco solúveis, como silicatos e óxidos, o decréscimo do pH induz a liberação de espécies monoméricas de Al^{3+} na solução do solo (Ofoe et al., 2023). Essa forma iônica é altamente reativa e pode afetar

rapidamente o crescimento das raízes e, conseqüentemente, o desenvolvimento da planta (Kochian et al., 2015).

A inibição do alongamento radicular é uma das respostas mais rápidas e evidentes, resultante da interação do Al^{3+} com a parede celular, a membrana plasmática e sítios metabólicos no citoplasma, o que compromete a divisão e a expansão celular, a atividade enzimática e a síntese de ATP e DNA (Kochian et al., 2005; Ma, 2007; Wang et al., 2025). Como consequência, as raízes tornam-se mais curtas, espessas e com menor ramificação, reduzindo a exploração do solo e a absorção de água e nutrientes (Yang et al., 2013). Além dos efeitos estruturais nas raízes, o Al pode desencadear alterações metabólicas associadas ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs), peroxidação de membranas e desorganização de processos fisiológicos essenciais, tais como a respiração celular, a atividade de enzimas antioxidantes e a manutenção da homeostase iônica, comprometendo a integridade estrutural e funcional das células radiculares (Yamamoto et al., 2002; Inostroza-Blancheteau et al., 2012).

O Mn^{2+} , por sua vez, é micronutriente essencial, mas pode tornar-se fitotóxico quando sua disponibilidade aumenta em solos ácidos (Alejandro et al., 2020). Embora compostos de Mn nos estados de oxidação II, III e IV possam ocorrer de forma estável na fase sólida do solo, as plantas absorvem o elemento predominantemente na forma Mn^{2+} presente na solução do solo (Skórka et al., 2022). Assim, dependendo da quantidade disponível e absorvida, o excesso de Mn^{2+} compromete o crescimento e o desenvolvimento vegetal, mesmo em concentrações relativamente baixas para algumas espécies (Foy, 1984; El-Jaoual & Cox, 1998; Yao et al., 2012; Alejandro et al., 2020). Diferentemente do Al^{3+} , cujos sintomas iniciais se concentram nas raízes, a toxidez por Mn^{2+} tende a se manifestar com maior intensidade na parte aérea, afetando folhas, apoplasto foliar e cloroplastos, com prejuízos ao fluxo fotossintético de elétrons e à homeostase de elementos essenciais (Fernando & Lynch, 2015; Li et al., 2019; Che, Zhao & Shen, 2023).

Embora a calagem seja recomendada para reduzir a acidez e a disponibilidade de Al^{3+} e Mn^{2+} em solos agrícolas (Fageria & Baligar, 2008; Enesi et al., 2023), sua adoção na Amazônia é limitada pelo elevado custo, pela logística de aplicação e pelo efeito mais restrito às camadas superficiais do solo. Nesse contexto, a identificação de genótipos mais adaptados a solos ácidos surge como estratégia complementar ao manejo químico da acidez (Lidon, 2000; Echart et al., 2002). Essa abordagem é relevante porque a tolerância

a Al^{3+} e Mn^{2+} varia conforme o tipo de solo, a fertilidade, a espécie e o genótipo avaliado (Fageria & Baligar, 2003), exigindo estudos específicos para o guaranazeiro.

Nesse sentido, cultivares plantadas em sistemas produtivos regionais, como BRS Amazonas (CMU-300), BRS Maués (CMU-871) e BRS Noçoquém (Atroch & Nascimento Filho, 2021, 2024) podem apresentar respostas contrastantes aos estresses associados à acidez do solo. O excesso de Al^{3+} e Mn^{2+} pode desencadear desbalanços nutricionais e metabólicos, reduzir a eficiência de uso dos nutrientes, comprometer o transporte de elétrons no fotossistema II e induzir respostas bioquímicas de proteção, como o acúmulo de prolina (Panda et al., 2009; Chatzistathis et al., 2011; Rejeb et al., 2014; Yang et al., 2015; Sade et al., 2016). Assim, a integração de variáveis de crescimento, nutrição mineral, fluorescência da clorofila *a*, anatomia vegetal, eficiência nutricional e acúmulo de prolina permite elucidar mecanismos associados à sensibilidade e à tolerância diferencial entre genótipos de guaranazeiro. Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos de concentrações crescentes de Al e Mn sobre cultivares de guaranazeiro, integrando respostas de crescimento, nutricionais, fotoquímicas, anatômicas e bioquímicas, bem como caracterizar os sintomas associados à toxidez desses elementos em condições de solos ácidos.

2. REFERÊNCIAS

ALEJANDRO, S.; HÖLLER, S.; MEIER, B.; PEITER, E. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 300, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00300>.

ATROCH, A. L.; NASCIMENTO FILHO, F. J. do. **Cultivar BRS Noçoquém: principais características e recomendações básicas para plantio no Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2021. 7 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado Técnico, 154). ISSN 1517-3887.

ATROCH, A. L.; NASCIMENTO FILHO, F. J. do. **Melhoramento genético do guaranazeiro: seleção clonal no período de 1996 a 2010**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2024. 7 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 59). e-ISSN 2965-7490.

ATROCH, A. L.; NASCIMENTO FILHO, F. J. D. Guarana-*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. In: **Exotic Fruits**. Academic Press, 2018. p. 225-236. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00029-0>.

BATISTA, I. M. P. 2014. **Recomendação de calagem para alguns solos do Estado do Amazonas**. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical). Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2014. 37f.

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. <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.531362>.

CHE, J.; ZHAO, X. Q.; SHEN, R. F. Molecular mechanisms of plant adaptation to acid soils: A review. **Pedosphere**, v. 33, n. 1, p. 14-22, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.10.001>

CRISTANCHO, R. J. A.; HANAFI, M. M.; SYED OMAR, S. R.; RAFII, M. Y. Aluminum speciation of amended acid tropical soil and its effects on plant root growth. **Journal of Plant Nutrition**, v.37, n.6, p.811-827, 2014. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.881856>.

DALONSO, N.; PETKOWICZ, C. L. O. Guarana powder polysaccharides: Characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1804-1812, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.088>.

EL-JAOUAL, T.; COX, D. A. Manganese toxicity in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 353-386, 1998. <https://doi.org/10.1080/01904169809365409>.

ENESI, R. O.; DYCK, M.; CHANG, S.; THILAKARATHNA, M. S.; FAN, X.; STRELKOV, S.; & GORIM, L. Y. Liming remediates soil acidity and improves crop yield and profitability-a meta-analysis. **Frontiers in Agronomy**, v. 5, p. 1194896, 2023. <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1194896>

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Fertility management of tropical acid soils for sustainable crop production. **Handbook of soil acidity**, p. 359-385, 2003.

FERNANDO, D. R.; LYNCH, J. P. Manganese phytotoxicity: new light on an old problem. **Annals of Botany**, v. 116, n. 3, p. 313-319, 2015. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv111>.

FILOCHE, G.; PINTON, F. Who Owns Guaraná? Legal Strategies, Development Policies and Agricultural Practices in Brazilian Amazonia. **Journal of Agrarian Change**, v. 14, n. 3, p. 380-399, 2014. <https://doi.org/10.1111/joac.12035>.

FOY, C. D. Chapter II - Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil. In: ADAMS, F. **Soil Acidity and Liming**, 2. ed, n. 12, USA: Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, 1984, 380 p. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr12.2ed.c2>.

INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; RENGEL, Z.; ALBERDI, M.; DE LA LUZ MORA, M.; AQUEA, F.; ARCE-JOHNSON, P.; REYES-DÍAZ, M. Molecular and physiological strategies to increase aluminum resistance in plants. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 2069-2079, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0954-4>.

KOCHIAN, L. V.; PINEROS, M. A.; HOEKENGA, O. A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. **Plant and Soil**, v. 274, p. 175-195, 2005. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1158-7>.

- KOCHIAN, L. V.; PIÑEROS, M. A.; LIU, J.; & MAGALHAES, J. V. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 571-598, 2015. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>.
- KOPITTKKE, P. M.; MOORE, K. L.; LOMBI, E.; GIANONCELLI, A.; FERGUSON, B. J.; BLAMEY, F. P. C.; & TOLLENAERE, A. Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. **Plant Physiology**, v. 167, n. 4, p. 1402-1411, 2015. <https://doi.org/10.1104/pp.114.253229>.
- LÄUCHLI, A.; GRATAN, S. R. Extremos de pH do solo. In: **Fisiologia do estresse vegetal**. Wallingford Reino Unido: CABI, 2012. p. 194-209. <https://doi.org/10.1079/9781845939953.0194>.
- LI, J.; JIA, Y.; DONG, R.; HUANG, R.; LIU, P.; LI, X.; & CHEN, Z. Advances in the mechanisms of plant tolerance to manganese toxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, p. 5096, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20205096>.
- LIDON, F. J. C. Rice Adaptation to Excess Manganese: Nutrient Accumulation and Implications of the Quality of Crops. **Journal Plant Physiol**, v. 156, p. 652-658, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80227-8](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80227-8).
- LIMA ECHART, C.; FERNANDES BARBOSA-NETO, J.; GARVIN, D. F.; CAVALLI-MOLINA, S. Aluminum tolerance in barley: methods for screening and genetic analysis. **Euphytica**, v. 126, n. 3, p. 309-313, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1019964410057>.
- MA, J.; F. Syndrome of aluminum toxicity and diversity of aluminum resistance in higher plants. **International review of cytology**, v. 264, p. 225-252, 2007. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(07\)64005-4](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(07)64005-4).
- MAIA, M. A. M. e MARMO, J. L. **Geodiversidade do estado do Amazonas**. CPRM, Manaus, 2010, 275p.
- MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K. Soil chemical attributes of Amazonas state, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 40, n. 17-18, p. 2912-2925, 2009. <https://doi.org/10.1080/00103620903175371>.
- NAVASCUÉS, J.; PÉREZ-RONTOMÉ, C.; SÁNCHEZ, D. H.; STAUDINGER, C.; WIENKOOP, S.; RELLÁN-ÁLVAREZ, R.; & BECANA, M. Oxidative stress is a consequence, not a cause, of aluminum toxicity in the forage legume *Lotus corniculatus*. **New Phytologist**, v. 193, n. 3, p. 625-636, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03978.x>
- NINA, N. V. D. S.; SCHIMPL, F. C.; NASCIMENTO FILHO, F. J. D.; ATROCH, A. L. Phytochemistry divergence among guarana genotypes as a function of agro-industrial characters. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 443-455, 2021. <https://doi.org/10.1002/csc2.2033>.
- OFOE, R.; THOMAS, R. H.; ASIEDU, S. K.; WANG-PRUSKI, G.; FOFANA, B.; & ABBEY, L. Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1085998, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085998>.
- PANDA, S.; BALUŠKA, F.; MATSUMOTO, H. Aluminum stress signaling in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n. 7, p. 592-597, 2009. <https://doi.org/10.4161/psb.4.7.8903>.

- PLACIDO JR, C. G.; MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C. Spacing and plant density in the yield components, nutritional status, and soil fertility of guarana varieties grown in humid tropical Amazon. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, n. 12, p. 1551-1565, 2015. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1043461>.
- QUESADA, C. A.; LLOYD, J.; ANDERSON, L. O.; FYLLAS, N. M.; SCHWARZ, M.; CZIMCZIK, C. I. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. **Biogeosciences**, v. 8, n. 6, p. 1415-1440, 2011. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1415-2011>.
- REJEB, K. B.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 80, p. 278-284, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.007>.
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9910-z>.
- SCHIMPL, F. C.; SILVA, J. F.; GONÇALVES, J. F. C.; MAZZAFERA, P. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150; n. 1, p. 14-31, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.023>.
- SKÓRKA, M.; SIEPRAWSKA, A.; TELK, A. The Implication of Manganese Surplus on Plant Cell Homeostasis: A Review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 1327-1341, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10637-x>.
- YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; DEVI, S. R.; RIKIISHI, S.; MATSUMOTO, H. Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells. **Plant physiology**, v. 128, n. 1, p. 63-72, 2002. <https://doi.org/10.1104/pp.010417>.
- YANG, L. T.; QI, Y. P.; JIANG, H. X.; & CHEN, L. S. Roles of organic acid anion secretion in aluminium tolerance of higher plants. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/173682>.
- YAO, Y.; XU, G.; MOU, D.; WANG, J.; & MA, J. Subcellular Mn compartation, anatomic and biochemical changes of two grape varieties in response to excess manganese. **Chemosphere**, v. 89, n. 2, p. 150-157, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.030>.
- YONEKURA, L.; MARTINS, C. A.; SAMPAIO, G. R.; MONTEIRO, M. P.; CÉSAR, L. A. M.; MIOTO, B. M.; & DA SILVA TORRES, E. A. F. Bioavailability of catechins from guaraná (*Paullinia cupana*) and its effect on antioxidant enzymes and other oxidative stress markers in healthy human subjects. **Food & Function**, [S.L.], v. 7, n. 7, p. 2970-2978, 2016. <https://doi.org/10.1039/c6fo00513f>.
- ZHAO, X. Q.; CHEN, R. F.; SHEN, R. F. Coadaptation of plants to multiple stresses in acidic soils. **Soil science**, v. 179, n. 10-11, p. 503-513, 2014. <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000086>.
- WANG, F.; LI, X.; CHEN, C.; ZHAO, L.; WEI, Y. Mechanism of melatonin in alleviating aluminum toxicity in plants: a review. **Biology**, v. 14, n. 10, p. 1316, 2025. <https://doi.org/10.3390/biology14101316>.

**TOXIDEZ POR ALUMÍNIO EM GUARANAZEIRO CV. BRS-NOÇOQUÉM:
RESPOSTAS DE CRESCIMENTO, ANATÔMICAS, BIOQUÍMICAS E
NUTRICIONAIS**

CAPÍTULO 1

TOXIDEZ POR ALUMÍNIO EM GUARANAZEIRO CV. BRS-NOÇOQUÉM: RESPOSTAS DE CRESCIMENTO, ANATÔMICAS, BIOQUÍMICAS E NUTRICIONAIS

RESUMO

A toxidez por alumínio (Al) é uma das principais limitações ao crescimento vegetal em solos ácidos, mas seus efeitos em culturas amazônicas ainda são pouco compreendidos. Para avaliar os efeitos do Al em guaranazeiro, analisamos o crescimento, o teor e acúmulo de nutrientes, a eficiência nutricional, o acúmulo de prolina e a anatomia de plantas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS-Noçoquém submetidas a concentrações de Al (0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$) no solo. O Al comprometeu o crescimento inicial, sobretudo a massa seca de raízes, massa seca total, volume radicular e área foliar, com concentração crítica agronômica estimada a partir de 0,5 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$. O sistema radicular foi o compartimento mais afetado, com maior acúmulo de Al, aumento da prolina e alterações morfoanatômicas, como o espessamento do xilema e redução do floema. O estresse metálico também modificou a homeostase nutricional, especialmente aumentando a eficiência de uso de P e limitando a translocação de Ca. Em conjunto, os resultados sugerem sensibilidade da BRS-Noçoquém ao Al, embora associada a ajustes fisiológicos parciais relacionados à retenção radicular do elemento, à resposta bioquímica e à reorganização anatômica e nutricional sob toxidez.

Palavras-chave: *Paullinia cupana*, toxicidade de Al, eficiência nutricional, prolina e acidez do solo.

CHAPTER 1

ALUMINUM TOXICITY IN GUARANA CV. BRS-NOÇOQUÉM: GROWTH, ANATOMICAL, BIOCHEMICAL, AND NUTRITIONAL RESPONSES

ABSTRACT

Aluminum (Al) toxicity is one of the main limitations to plant growth in acidic soils, but its effects on Amazonian crops remain poorly understood. To evaluate the effects of Al on guarana plants, we analyzed growth, nutrient content and accumulation, nutritional efficiency, proline accumulation, and anatomy of *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS-Noçoquém plants subjected to Al concentrations (0; 1.0; 2.0; 3.0, and 4.0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$) in the soil. Al impaired initial growth, particularly root dry mass, total dry mass, root volume, and leaf area, with an agronomic critical concentration estimated from 0.5 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$. The root system was the most affected compartment, showing greater Al accumulation, increased proline content, and morphoanatomical changes such as xylem thickening and reduced phloem area. Metal stress also altered nutritional balance, particularly increasing P use efficiency and limiting Ca translocation. Overall, the results indicate sensitivity of BRS-Noçoquém to Al, although associated with partial physiological adjustments related to root retention of the element, biochemical response, and anatomical and nutritional reorganization under toxicity.

Keywords: *Paullinia cupana*; Al toxicity; nutritional efficiency; proline; soil acidity.

1. INTRODUÇÃO

A toxidez por alumínio (Al) é uma das principais limitações ao crescimento vegetal em solos ácidos, especialmente em regiões tropicais, onde a acidificação do solo aumenta a solubilização de Al^{3+} e intensifica seus efeitos fitotóxicos (Foy, 1978; Delhaize & Ryan, 1995; Kochian et al., 2015). Embora o Al seja o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre (Foy et al., 1978), até o momento não há evidências que comprovem função biológica essencial desse elemento no metabolismo vegetal (Singh et al., 2017; Ofoe et al., 2023).

Na maioria dos solos, o Al encontra-se predominantemente em formas pouco solúveis, como silicatos e óxidos de alumínio, sem causar efeitos tóxicos diretos às plantas (Buchanan et al., 2015; Singh et al., 2017). No entanto, sob $\text{pH} < 5$, ocorre maior solubilização de formas monoméricas de Al na solução do solo, entre as quais o Al^{3+} é considerado a espécie mais reativa e fitotóxica ao crescimento vegetal (Kochian, 1995; Panda & Matsumoto, 2007; Silva et al., 2020). O principal alvo da toxidez por Al é o sistema radicular, especialmente o ápice das raízes, onde ocorrem intensa divisão e alongamento celular (Delhaize & Ryan, 1995). O Al^{3+} interage com a parede celular, a membrana plasmática e o apoplasto, reduzindo a síntese de ATP e DNA e, consequentemente, a expansão celular (Ma, 2007; Kopittke et al., 2015). Como resultado, as raízes tornam-se curtas, espessas e pouco ramificadas, com menor capacidade de explorar o solo e absorver água e nutrientes, desorganizando a homeostase mineral e limitando o crescimento da parte aérea (Fageria & Baligar, 2003; Kochian et al., 2015).

Na Amazônia brasileira, esse problema é particularmente relevante. Grande parte das áreas agrícolas de terra firme é formada por Latossolos e Argissolos (Maia & Marmo, 2010; Quesada et al., 2011), solos intemperizados que combinam baixa fertilidade natural, elevada acidez e teores expressivos de Al trocável, frequentemente entre 0,8 e 1,8 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (Moreira & Fageria, 2009; Batista, 2014). Nessas condições, a maior solubilização de Al^{3+} pode restringir o crescimento radicular em profundidade e limitar a aquisição de água e nutrientes (Kochian et al., 2015). Espécies nativas podem apresentar diferentes graus de adaptação à acidez (Fageria & Baligar, 2008), seja por exclusão do Al, retenção radicular, complexação interna ou respostas bioquímicas ao estresse (Foy, 1988; Kochian et al., 2015).

Embora a toxidez por Al seja amplamente descrita em espécies agrícolas de referência, como milho (Batista et al., 2013), sorgo (Baligar et al., 1995), soja (Reis et al.,

2018) e cana-de-açúcar (Borges et al., 2020), ainda são escassas as informações sobre a resposta de espécies nativas da Amazônia, como o guaranazeiro. *Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, pertencente à família Sapindaceae, é uma espécie amazônica de elevado valor econômico e social, cujas sementes, ricas em cafeína e compostos bioativos, são utilizadas nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de bebidas energéticas (Dalonso & Petkowicz, 2012; Schimpl et al., 2013). A cv. BRS-Noçoquém, recomendada para cultivo no Estado do Amazonas (Atroch et al., 2015), constitui material estratégico para investigar a sensibilidade e os possíveis ajustes fisiológicos do guaranazeiro ao Al.

A caracterização da toxidez por Al requer uma abordagem integrada, capaz de conectar alterações no crescimento radicular, no estado nutricional e nas respostas metabólicas ao estresse. Nesse sentido, variáveis como eficiência nutricional, acúmulo de Al, prolina e anatomia vegetal permitem avaliar desde a limitação na absorção e uso de nutrientes (Dos Reis et al., 2018; Borges et al., 2020), até a ativação de mecanismos bioquímicos de proteção (Rejeb et al., 2014), contribuindo para identificar possíveis ajustes fisiológicos da planta sob estresse por Al.

As hipóteses que nortearam este estudo foram: i) concentrações crescentes de Al no solo comprometem o crescimento inicial e o equilíbrio nutricional das plantas; e ii) a cultivar apresenta certo grau de plasticidade fisiológica ao estresse, expressa pela retenção radicular de Al, pelo acúmulo de prolina e por ajustes na eficiência nutricional. Portanto, avaliamos os efeitos de concentrações crescentes de Al sobre o crescimento, a nutrição mineral, o acúmulo de prolina e a anatomia radicular de *P. cupana* cv. BRS- Noçoquém, buscando identificar descritores sensíveis da toxidez e possíveis respostas de ajuste ao alumínio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi conduzido entre fevereiro e outubro de 2025 em casa de cultivo sob luz solar natural, com densidade média de fluxo de fótons fotossintéticos de $612,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12 h/12 h (dia/noite), temperatura média de 35 ± 2 °C e umidade relativa de 63%. O estudo foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil ($03^{\circ}06'01,94''$ S; $59^{\circ}58'34,59''$ W). Para tal, utilizamos mudas da cultivar de guaranazeiro BRS Noçoquém, com 12 meses de idade, no estágio de dois a quatro pares de folhas, obtidas por reprodução via sementes. Essa cultivar foi recentemente lançada e é recomendada para cultivo em solos de terra firme no Estado do Amazonas pela EMBRAPA Amazônia Ocidental, instituição pública brasileira que oferece suporte técnico à produção de guaraná na região.

O solo utilizado foi um Latossolo Amarelo Distrófico (Santos et al., 2018a), coletado em área de terra firme sob vegetação nativa (floresta ombrófila aberta), localizada no Setor Sul da Universidade Federal do Amazonas ($03^{\circ}10'22.86''$ S; $59^{\circ}57'52.57''$ W), na profundidade de 0-20 cm. O clima predominante da região é tropical úmido, classificado como *Af* segundo Alvares et al. (2013). Amostras compostas foram coletadas para caracterização química (Raij, 2001) e classificação textural (Teixeira et al., 2017). As propriedades químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos e da adubação básica foram: $\text{Al}^{3+} = 1,97 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca}^{2+} = 0,44 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg}^{2+} = 0,11 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (extrator KCl 1 mol L^{-1}); $\text{pH (H}_2\text{O)} = 3,96$; acidez potencial ($\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$) = $10,06 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (extrator acetato de cálcio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH } 7,0$); matéria orgânica = $2,96 \text{ dag kg}^{-1}$ (Walkley-Black); capacidade de troca catiônica (CTC) = $10,96 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; saturação por bases (V%) = 5,5; soma de bases = $0,62 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{K}^+ = 29 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{P} = 5,0 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Fe}^{2+} = 257,3 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Cu}^{2+} = 0,00 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Zn}^{2+} = 1,05 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Mn}^{2+} = 3,2 \text{ mg dm}^{-3}$ (extrator Mehlich-1). A textura foi determinada pelo método do hidrômetro, com agitação por 16 h a 30 rpm, sendo a fração areia ($2-0,053 \text{ mm}$) separada por peneiramento. O solo apresentou $60,0 \text{ dag kg}^{-1}$ de argila, $28,0 \text{ dag kg}^{-1}$ de

areia e 12,0 dag kg⁻¹ de silte. Os métodos de análise química e granulométrica seguiram protocolos descritos pela Embrapa (1999).

2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos por cinco níveis de alumínio no solo (0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 cmol_c dm⁻³). As plantas foram cultivadas em vasos plásticos de polietileno, sem poros de drenagem, com capacidade volumétrica de 4,0 dm⁻³ e distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os valores desejados de Al³⁺ no solo foram estimados com base na curva de neutralização da acidez (Dunn, 1943), conforme estudo realizado por Batista (2014). Nesse trabalho, os teores de Al³⁺ foram relacionados às doses de calcário e ajustados por regressão polinomial, sendo a equação obtida utilizada para estimar os níveis de Al³⁺ aplicados neste experimento.

Para estabelecer as condições de controle, a correção do solo foi realizada com base na análise química inicial. No tratamento controle (0 cmol_c dm⁻³ de Al³⁺), aplicaram-se 7,0 t ha⁻¹ de calcário com o objetivo de elevar o pH e imobilizar o Al³⁺. Para reduzir os níveis de alumínio a 1,0 cmol_c dm⁻³ (tratamento 2), foi realizada calagem com 1,75 t ha⁻¹. Nos demais tratamentos não houve aplicação de calcário. O corretivo utilizado foi uma mistura de CaCO₃ + 4MgCO₃·Mg(OH)₂·5H₂O (p.a.), na relação estequiométrica Ca:Mg de 3:1. Nos tratamentos em que os níveis de Al³⁺ não atingiram os valores desejados (T4 e T5), o alumínio foi suplementado por meio da adição de Al₂(SO₄)₃·18H₂O em forma sólida. Após a aplicação dos corretivos (carbonato de cálcio + magnésio) e da fonte de Al³⁺, o solo foi incubado por 30 dias.

2.3 Adubação básica

Após a incubação dos solos para obtenção dos níveis desejados de Al³⁺, estes foram secos, destorroados e submetidos à adubação básica (Tabela 1). A formulação foi fundamentada nas características químicas do solo, no potencial de resposta da espécie e nas recomendações de Allen, Terman & Clements (1976) e Malavolta (1980) para cultivo de plantas em ambiente protegido. Todas as aplicações foram realizadas com reagentes de grau analítico (p.a.), e os nutrientes foram balanceados ou semi-balanceados de forma que apenas os níveis de Al³⁺ variassem entre os tratamentos.

Tabela 1. Composição da adubação básica semibalanceada utilizada no cultivo de *Paullinia cupana* cv. BRS Noçoquém, contendo as concentrações de macro e micronutrientes (mg dm⁻³ de

solo) fornecidas via solução nutritiva e sólida sob diferentes concentrações (tratamentos) de alumínio (Al).

Nutrientes	Fontes	Tratamentos (Concentrações de Al)				
		0,0	1,0	2,0	3,0	4,0
Nitrogênio (N)	Ca(NO ₃) ₂ ; CH ₄ N ₂ O	281	281	281	281	281
Fósforo (P)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O; H ₃ PO ₄ ; (NH ₄) ₂ HPO ₄	466	466	466	466	466
Potássio (K)	KCl	100	100	100	100	100
Cálcio (Ca)	Ca(NO ₃) ₂ ; Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	1053	528	528	528	528
Magnésio (Mg)	MgSO ₄ ; Mg(NO ₃) ₂	213	107	107	107	107
Enxofre (S)	S ⁰	204	204	204	204	364
Manganês (Mn)	MnSO ₄ ·H ₂ O	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6
Zinco (Zn)	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Cobre (Cu)	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Boro (B)	H ₃ BO ₃	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Cloro (Cl)	KCl	91	91	91	91	91
Molibdênio (Mo)	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15

Os corretivos foram aplicados na forma sólida (pó), enquanto a adubação básica e a aplicação das diferentes doses de Al³⁺ foram realizadas em solução, com exceção do fosfato de cálcio e do enxofre elementar. As soluções foram adicionadas por meio de pipetas volumétricas, na proporção de 40 mL por vaso para macronutrientes e 20 mL por vaso para micronutrientes. O solo de cada vaso foi transferido para bandejas, onde recebeu as soluções e foi homogeneizado manualmente. Após a aplicação dos fertilizantes, individualizada por tratamento, o solo foi devolvido aos vasos e incubado por 30 dias para permitir o equilíbrio das fontes com o solo. Durante o período de incubação, a umidade foi mantida em 70% da capacidade de campo, utilizando água deionizada. Os atributos químicos do solo após a incubação estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Características químicas do solo após incubação com adubação básica e cinco concentrações de alumínio (Al³⁺), utilizadas para avaliar o crescimento das plantas em condições de casa de vegetação.

Concentração nominal de Al	pH	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	T	V	m
(cmol _c dm ⁻³)	H ₂ O	----- cmol _c dm ⁻³ -----			-----%-----		
0,0	4,41	0,17	4,79	1,20	13,06	47,20	2,70
1,0	4,07	0,62	2,80	0,64	11,49	31,20	14,70
2,0	3,78	0,73	2,41	0,61	10,95	29,70	18,80
3,0	3,80	0,78	3,05	0,75	12,05	33,00	16,00
4,0	3,52	1,12	4,78	0,48	14,33	38,00	17,00

Concentração nominal de Al ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$)	K^+	P	Cu^{2+}	Fe^{2+}	Mn^{2+}	Zn^{2+}	P-Rem
	----- mg dm^{-3} -----						mg L^{-1}
0,0	67,0	157,0	0,45	250,0	4,30	4,15	46,0
1,0	58,0	143,0	0,72	267,0	3,70	4,47	41,0
2,0	89,0	135,0	0,48	274,0	3,60	4,11	39,0
3,0	60,0	149,0	0,59	284,0	4,70	5,93	42,0
4,0	65,0	158,0	0,54	270,0	2,30	2,93	36,0

H+Al: acidez potencial, T: capacidade de trocar cátions potencial, V: saturação por bases, m: saturação por alumínio; controle: $0,17 \text{ Cmol}_c \text{ dm}^{-3}$.

2.4 Variáveis analisadas

Após 240 dias de exposição às diferentes concentrações de Al, foram avaliadas respostas bioquímicas, nutricionais, anatômicas e de crescimento das plantas. A resposta bioquímica foi determinada pelo acúmulo de prolina em folhas e raízes, enquanto o estado nutricional foi avaliado por meio dos teores e acúmulos de macro e micronutrientes nesses mesmos órgãos, bem como pelos índices de eficiência de uso, absorção e translocação de nutrientes. As alterações anatômicas foram analisadas em tecidos radiculares e foliares, permitindo caracterizar modificações estruturais induzidas pelo Al. Adicionalmente, foram mensurados parâmetros de crescimento, incluindo altura de plantas, volume radicular, área foliar e biomassa aérea e radicular, de modo a integrar respostas morfofisiológicas, nutricionais e bioquímicas ao estresse por alumínio.

2.4.1 Determinação do teor de prolina

A concentração de prolina foi determinada na matéria seca das folhas (MSF) e raízes (MSR), conforme Bates, Waldren e Teare (1973), com adaptação de Leite et al. (2000). As amostras foram maceradas e homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfossalicílico 3% (p/v) e centrifugadas a 600 rpm por 30 min. Do sobrenadante, 2 mL foram transferidos para novos tubos e adicionados 2 mL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina + 2 mL de ácido acético glacial concentrado). Os tubos foram fechados hermeticamente, mantidos em banho-maria a 100°C por 1 h e resfriados em gelo. Após agitação por 15-20 s e repouso até formação de duas fases, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando tolueno como branco. A concentração de prolina foi estimada por curva padrão e expressa em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$.

2.4.2 Análises anatômicas nos tecidos radiculares e foliares

2.4.2.1 *Microscopia óptica*

Para a análise anatômica, foram utilizados órgãos vegetativos (raízes e folhas). Amostras da nervura central de folhas expandidas e segmentos de 1,5 cm do ápice radicular foram fixados em solução de Bouin e armazenados em álcool 70% (Johansen, 1940). As amostras foram desidratadas em série etanólica, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina, conforme protocolo adaptado de Souza (2005). Cortes histológicos de 5 µm foram corados com Azul de Astra 1% e Safranina 1%, observados e fotografados em microscópio de luz (DM2700, Leica). As imagens foram analisadas no ImageJ 1.54g (Schneider et al., 2012) para mensuração da espessura do parênquima paliçádico (PP), esponjoso (SP), diâmetro da nervura central (folhas), xilema primário (PX) e floema secundário (SPh) nas raízes. Para todas as variáveis, foram calculadas estatísticas descritivas para caracterizar a distribuição dos dados entre tratamentos.

2.4.3 Parâmetros nutricionais

2.4.3.1 *Sintomatologia, conteúdo e acúmulo de nutrientes*

Os sintomas de toxidez por alumínio na parte aérea e raízes foram registrados ao final do experimento utilizando câmera Canon EOS Rebel T7 (S18-55 IS II BR). Para a determinação do teor de nutrientes, o material vegetal (raiz e parte aérea) foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C por 72 h e triturado em moinho tipo Wiley. Para o nitrogênio (N), amostras de 0,1 g foram submetidas à digestão sulfúrica e analisadas pelo método Kjeldahl (Bremner, 1996). Para os demais nutrientes, amostras de 0,5 g foram digeridas em mistura nítrico-perclórica (Sarruge & Haag, 1974). As concentrações de Al, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES; PerkinElmer, modelo Optima 8300 DV). Com base nos teores obtidos na massa seca foliar (MSF) e radicular (MSR), calculamos o acúmulo de nutrientes (AN) nas plantas, segundo a equação: $AN = \text{teor de nutriente (g ou mg kg}^{-1}) \times \text{MSF ou MSR (kg)}$.

2.4.4 Índices de eficiência nutricional

A partir da massa seca e do conteúdo de nutrientes nas plantas, foram calculados os seguintes índices: (a) eficiência de uso de nutrientes (EUN) = (massa seca total

produzida)² / (conteúdo total do nutriente na planta) (Siddiqi & Glass, 1981); (b) eficiência de absorção (EA) = (conteúdo total do nutriente na planta) / (massa seca de raízes) (Swiader et al., 1994); e (c) eficiência de translocação (ET) = [(acúmulo do nutriente na parte aérea) / (acúmulo do nutriente em folhas + raízes)] × 100 (Li et al., 1991).

2.4.5 Parâmetros de crescimento

A taxa de crescimento relativo foi calculada com base em dados de altura e diâmetro obtidos aos 30 e aos 240 DAP. Com base nesses dados, as taxas de crescimento relativo (TCR) foram obtidas através da equação: $TCR_Y = [(LogY_{final}) - (LogY_{inicial})] / (Tempo_{final} - Tempo_{inicial})$ (Bugbee, 1996; Davanso *et al.*, 2002). Onde, TCR_Y = taxa de crescimento relativo da variável dependente; $LogY_{final}$ = valor final da variável dependente; $LogY_{inicial}$ = valor inicial da variável dependente; $Tempo_{final}$ = tempo final da condução do experimento (meses); $Tempo_{inicial}$ = tempo inicial da condução do experimento (meses). O volume radicular (VR) foi determinado pelo método de Carrigan & Frey (1980), utilizando proveta graduada de 1000 mL com 700 mL de água destilada, sendo o VR calculado pela diferença entre o volume inicial e o volume após a inserção das raízes. A área foliar (AF) foi obtida com medidor eletrônico de área foliar (Scanner CI-202, CID, Inc., Camas, WA, EUA). A produção de massa seca foi determinada após a compartimentalização das plantas em parte aérea (folhas, caule e pecíolos) e raízes, seguida de lavagem em água deionizada, secagem em estufa de circulação forçada a 70 °C até massa constante e pesagem em balança de precisão (0,001 g). Foram obtidas a massa seca do caule (MSC), das folhas (MSF), da parte aérea (MSPA = MSC + MSF + pecíolos), das raízes (MSR) e a massa seca total (MST = MSPA + MSR).

2.5. Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos à detecção de *outliers*, ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene (Levene, 1960). As variáveis que não atenderam às premissas (translocação, acúmulo e concentração de Al nas folhas) foram transformadas logaritmicamente e reavaliadas. Atendidas as condições de normalidade e homocedasticidade, aplicamos análise de variância. Quando o valor de F foi significativo ($p < 0,05$), as médias foram ajustadas a modelos de regressão polinomial, escolhidos com base na significância, no coeficiente de determinação (R^2) e na plausibilidade biológica. A partir das equações,

estimamos os níveis críticos de toxidez por Al ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), definidos como a concentração que reduziu em 10% a variável resposta em relação à concentração zero de Al. Para avaliar simultaneamente as variáveis resposta em função das concentrações de Al, foram realizadas análises de Componentes Principais (PCA) e Discriminante Canônica (CDA). A PCA foi empregada como técnica exploratória para reduzir a dimensionalidade e identificar padrões de associação entre crescimento, nutrição, estresse e acúmulo de alumínio, com resultados apresentados em biplots que evidenciam a contribuição das variáveis e a variância explicada. A CDA foi utilizada como técnica confirmatória para maximizar a separação entre os tratamentos e identificar as variáveis mais relevantes para a discriminação entre grupos, por meio de funções canônicas que otimizam a razão entre variância inter e intragrupos.

3. RESULTADOS

As concentrações crescentes de alumínio promoveram alterações significativas ($p < 0,05$) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém, afetando de forma abrangente a dinâmica nutricional, o crescimento, a morfologia, os atributos anatômicos e as respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas. A amplitude desses efeitos, evidenciada nas Figuras 1-19, demonstra que o alumínio influenciou múltiplos níveis de resposta, desde parâmetros de desenvolvimento até características estruturais e metabólicas das plantas.

3.1 Acúmulo de nutrientes nas folhas e raízes

O alumínio afetou significativamente ($p < 0,05$) o acúmulo de nutrientes nas plantas tanto nas folhas quanto nas raízes (Figuras 1, 2 e 3). Nas folhas, N e Zn apresentaram ajuste quadrático com concavidade para baixo, com incremento até concentrações intermediárias e redução nas maiores doses (Figuras 1A e 2C). O acúmulo de P diminuiu linearmente com o aumento das concentrações de Al (Figura 1B). Para Ca, Mg, Cu e Fe, verificamos ajuste quadrático com concavidade para cima, caracterizado por redução inicial seguida de discreta elevação em doses mais altas (Figuras 1C, 1D, 2A e 2B). Por outro lado, K, S, Mn e B não foram significativamente influenciados pelas concentrações de Al ($p > 0,05$; dados não apresentados).

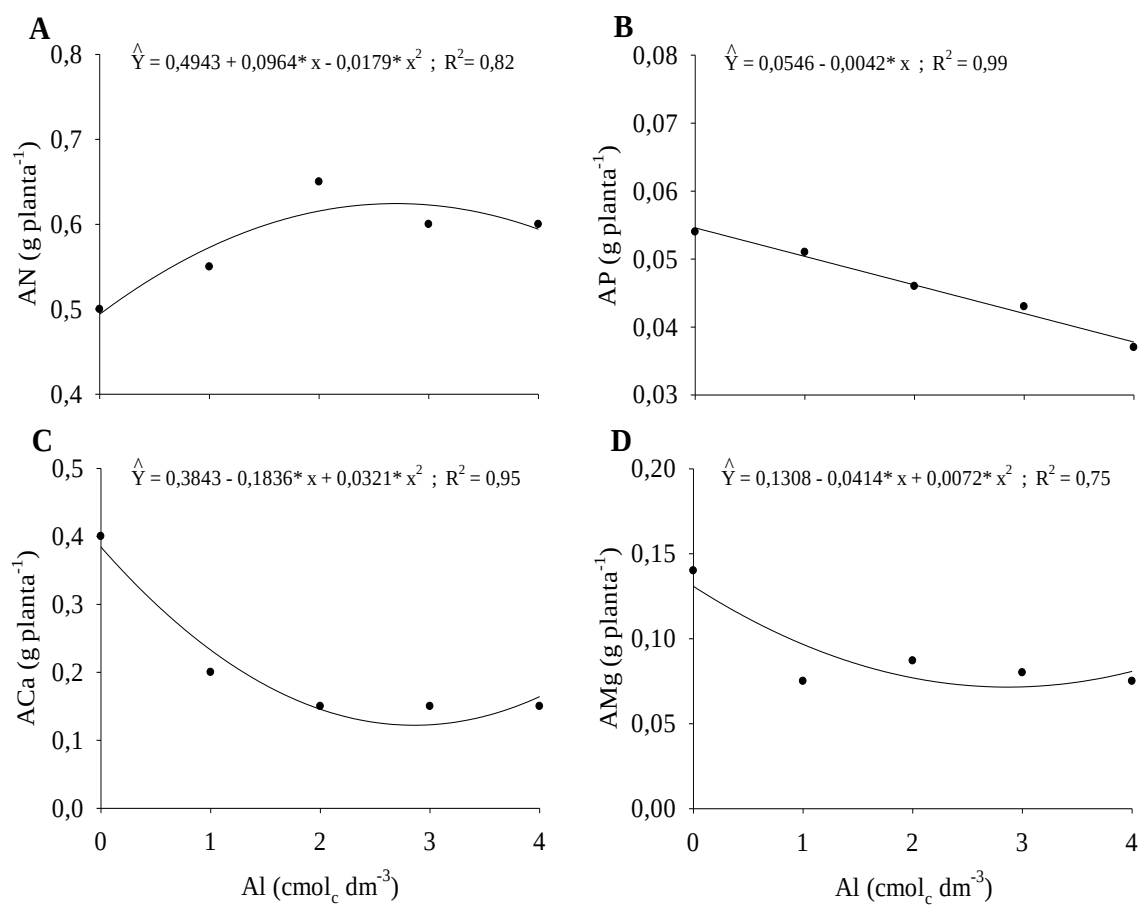


Figura 1. Acúmulo de nitrogênio (AN) (A), fósforo (AP) (B), cálcio (ACa) (C) e magnésio (AMg) (D) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

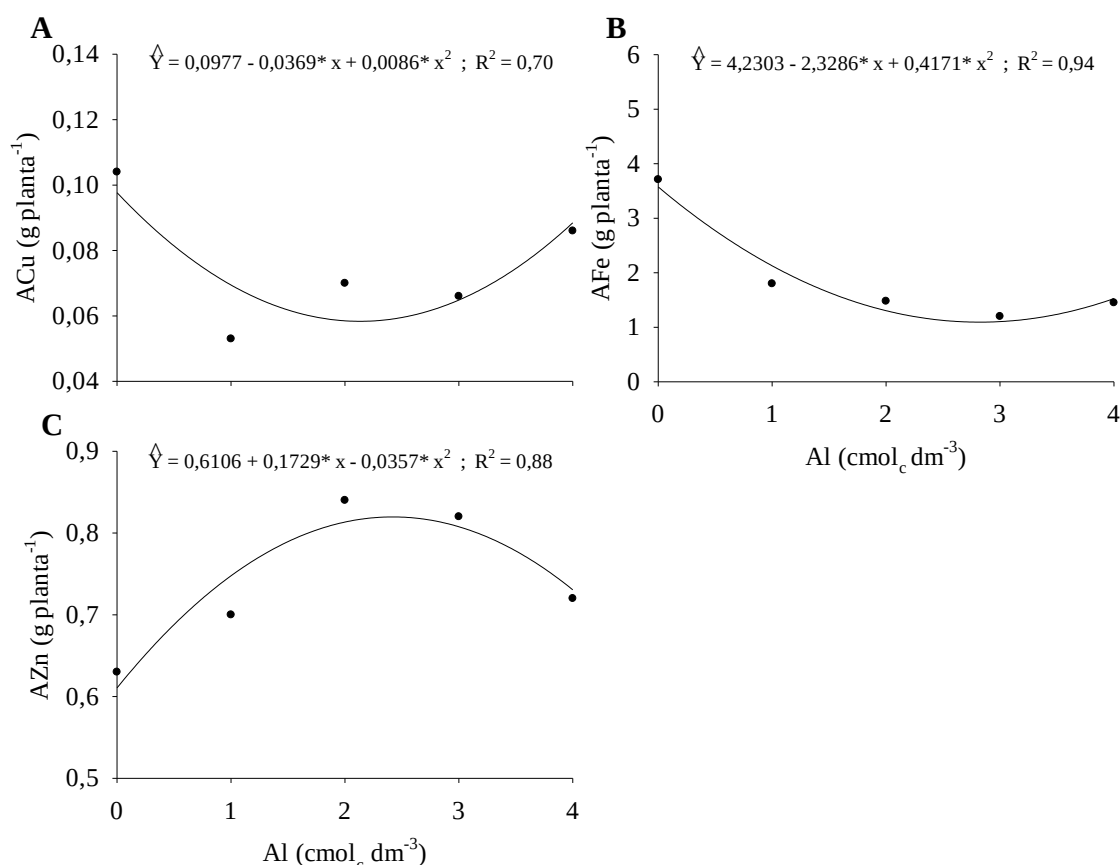


Figura 2. Acúmulo de cobre (ACu) (A), ferro (AFe) (B) e zinco (AZn) (C) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

Com base nas equações de regressão, estimamos a partir de quais concentrações de alumínio ocorreu redução de 10% no acúmulo dos nutrientes em relação ao controle. Nas folhas, essas reduções foram estimadas a partir de 1,30 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para P, 0,22 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para Ca, 0,34 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para Mg, 0,28 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para Cu e 0,19 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para Fe. Para N e Zn, o acúmulo aumentou até 2,69 e 2,42 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al, respectivamente, e decresceu a partir dessas concentrações.

Nas raízes, o acúmulo de P, Mg, Cu e Mn diminuiu significativamente em resposta ao aumento das concentrações de alumínio (Figuras 3A, 3B, 3D e 3E), enquanto o acúmulo de S apresentou ajuste quadrático com concavidade para cima, com redução até concentrações intermediárias e leve elevação na maior concentração avaliada (Figura 3C). Em contraste, os acúmulos radiculares de N, Ca, K, Fe, Zn e B não foram significativamente afetados pelo alumínio ($p > 0,05$; dados não apresentados). As reduções de 10% no acúmulo foram estimadas a partir de 0,71 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ para P, 0,89

cmol_c dm⁻³ para Mg, 0,29 cmol_c dm⁻³ para S, 0,77 cmol_c dm⁻³ para Cu e 0,79 cmol_c dm⁻³ para Mn.

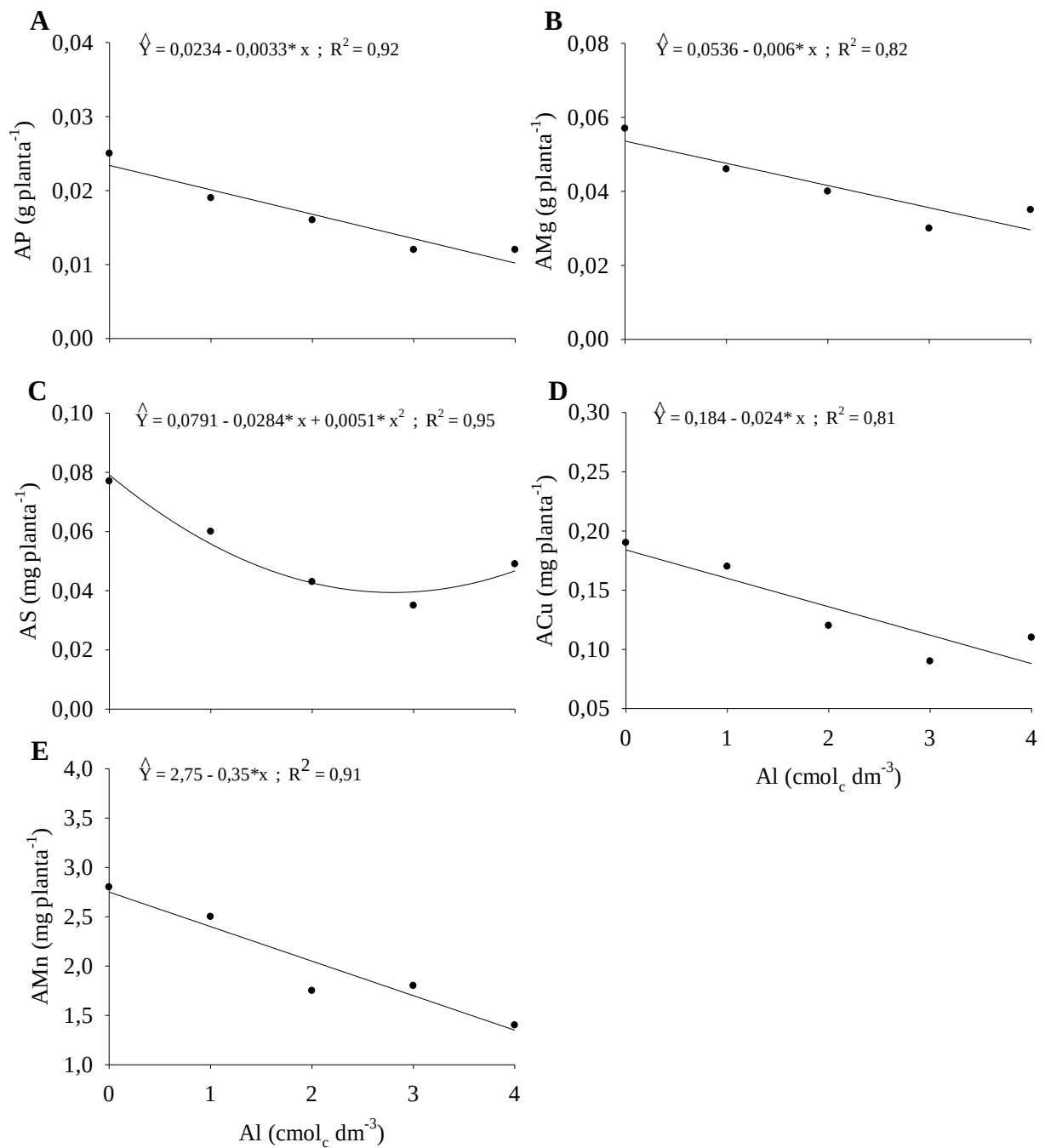


Figura 3. Acúmulo de fósforo (AP) (A), magnésio (AMg) (B), enxofre (AS) (C), cobre (ACu) (D) e manganês (AMn) (E) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio.
* Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

3.2 Concentração de nutrientes nas folhas e raízes

O alumínio afetou significativamente ($p < 0,05$) os teores de nutrientes, com diferentes respostas entre folhas e raízes (Figuras 4, 5, 6 e 7). Nas folhas, os teores de P e Mg apresentaram redução linear em resposta ao aumento das concentrações de Al (Figuras 4B e 4D). Com base nas equações de regressão, reduções de 10% em relação ao controle foram estimadas a partir de $1,28 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Al para P e $1,09 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para Mg. Os teores foliares de Ca, Fe e Cu ajustaram-se a modelo quadrático com concavidade para cima, caracterizado por redução inicial até concentrações intermediárias de Al, seguida de discreta elevação nas maiores concentrações (Figuras 4C, 5A e 5C). Para essas variáveis, a redução estimada de 10% em relação ao controle ocorreu a partir de $0,26 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para Ca, $0,20 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para Fe e $0,46 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para Cu. Por outro lado, os teores foliares de N, Zn, Mn e B apresentaram ajuste quadrático com concavidade para baixo, com aumento até concentrações intermediárias de Al e posterior decréscimo (Figuras 4A, 5B, 5D e 5E). Concentrações de K e S nas folhas, todavia, não foram significativamente influenciados pelas concentrações de alumínio avaliadas ($p > 0,05$; dados não apresentados).

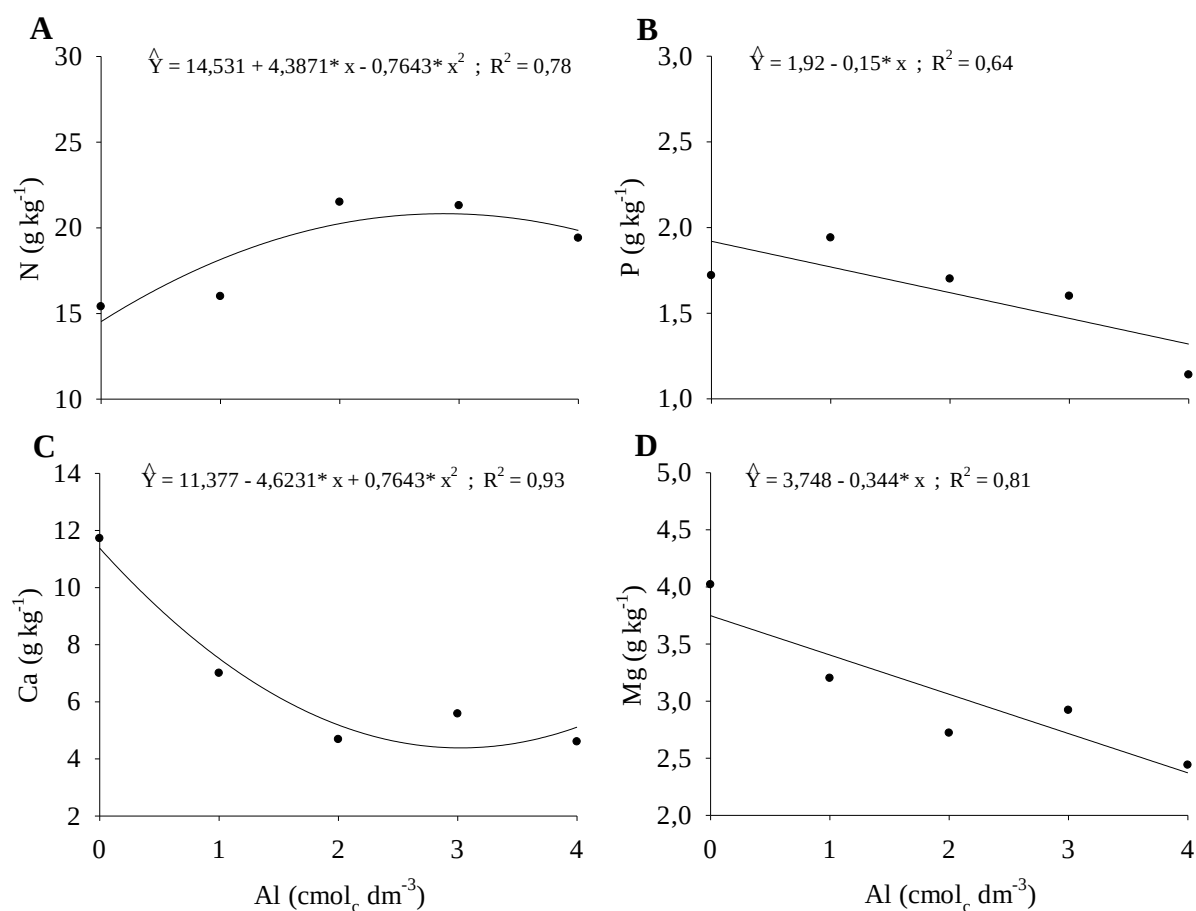


Figura 4. Teores de nitrogênio (N) (A), fósforo (P) (B), cálcio (Ca) (C) e magnésio (Mg) (D) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

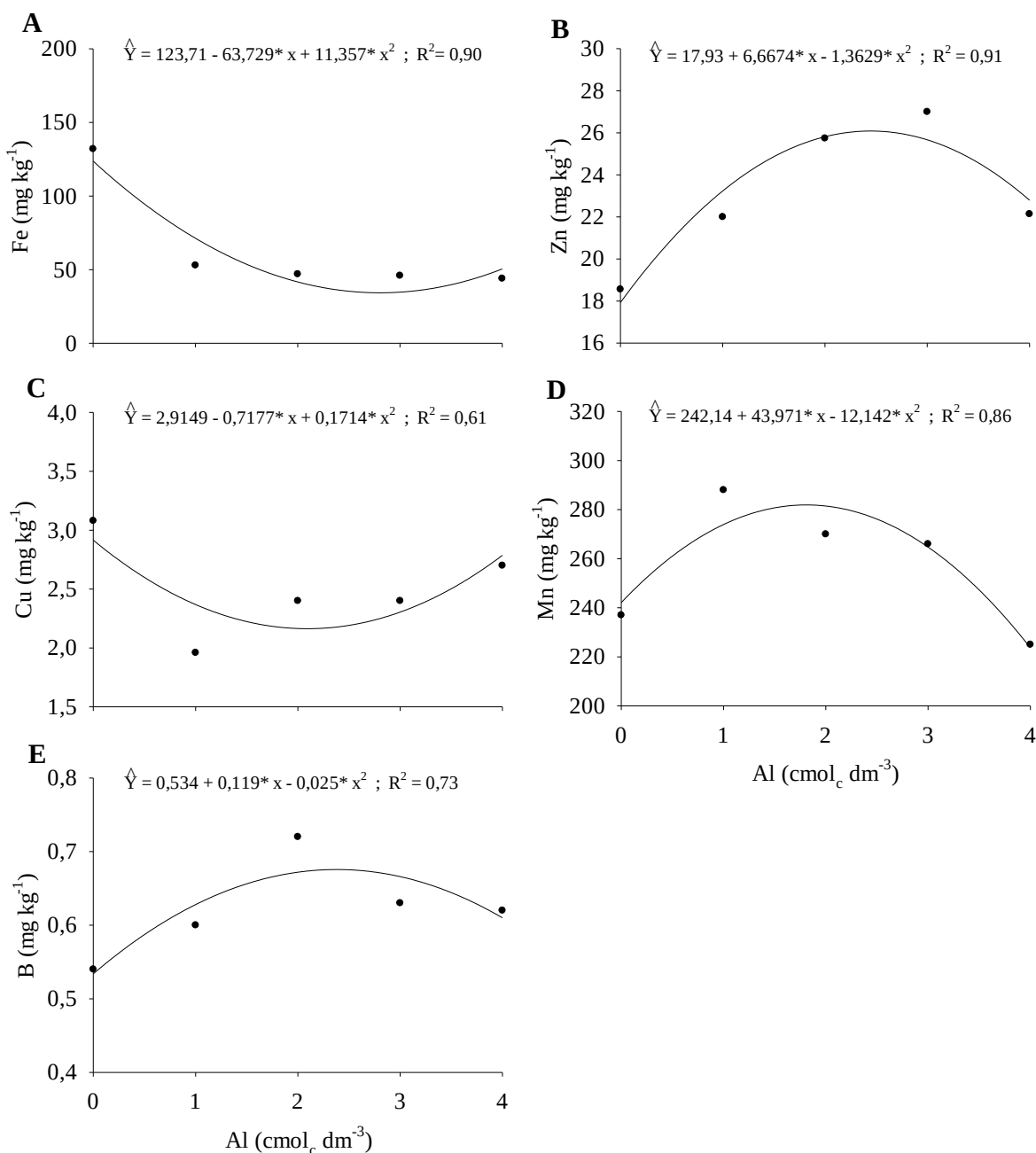


Figura 5. Teores de ferro (Fe) (A), zinco (Zn) (B), cobre (Cu) (C), manganês (Mn) (D) e boro (B) (E) nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

Nas raízes, os teores de P, Cu e Mn foram significativamente ($P < 0,05$) reduzidos com o aumento das concentrações de alumínio (Figuras 6B, 7A e 7C). As reduções estimadas de 10% em relação ao controle ocorreram a partir de 1,32 cmol_c dm⁻³ de Al para P, 1,39 cmol_c dm⁻³ para Cu e 1,65 cmol_c dm⁻³ para Mn. Em contraste, o teor radicular

de N apresentou aumento linear em função das concentrações de Al (Figura 6A), não sendo estimada redução de 10% em relação ao controle dentro da faixa estudada.

Os teores radiculares de Ca, Zn e B apresentaram ajuste quadrático com concavidade para baixo, caracterizado por incremento até concentrações intermediárias de alumínio, seguido de redução nas maiores doses avaliadas (Figuras 6C, 7B e 7D). Com base nas equações de regressão, os máximos teores foram estimados nas concentrações de 2,20 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Al para Ca, 2,56 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para Zn e 2,15 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ para B. A partir dessas concentrações, nota-se redução no teor radicular desses nutrientes. As concentrações de K, Mg e Fe nas raízes não foram significativamente afetadas pelo alumínio ($p > 0,05$; dados não apresentados).

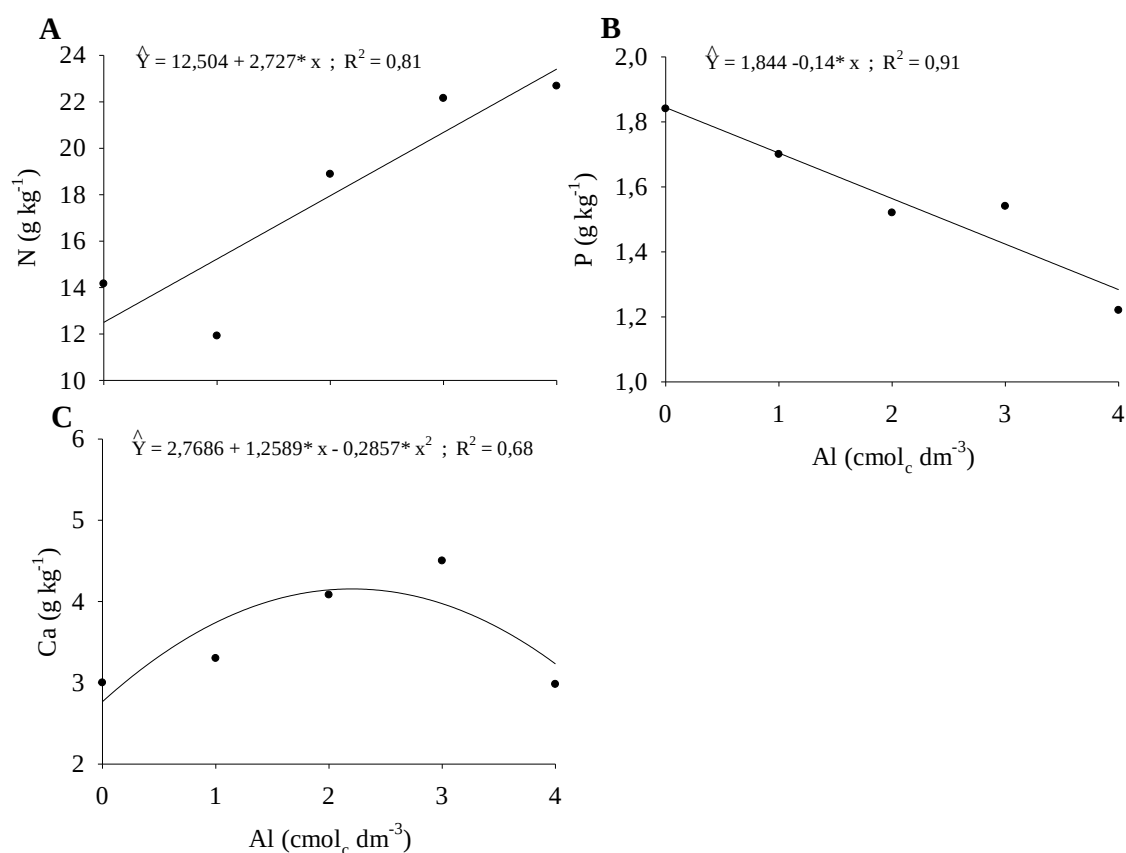


Figura 6. Teores de nitrogênio (N) (A), fósforo (P) (B) e cálcio (Ca) (C) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

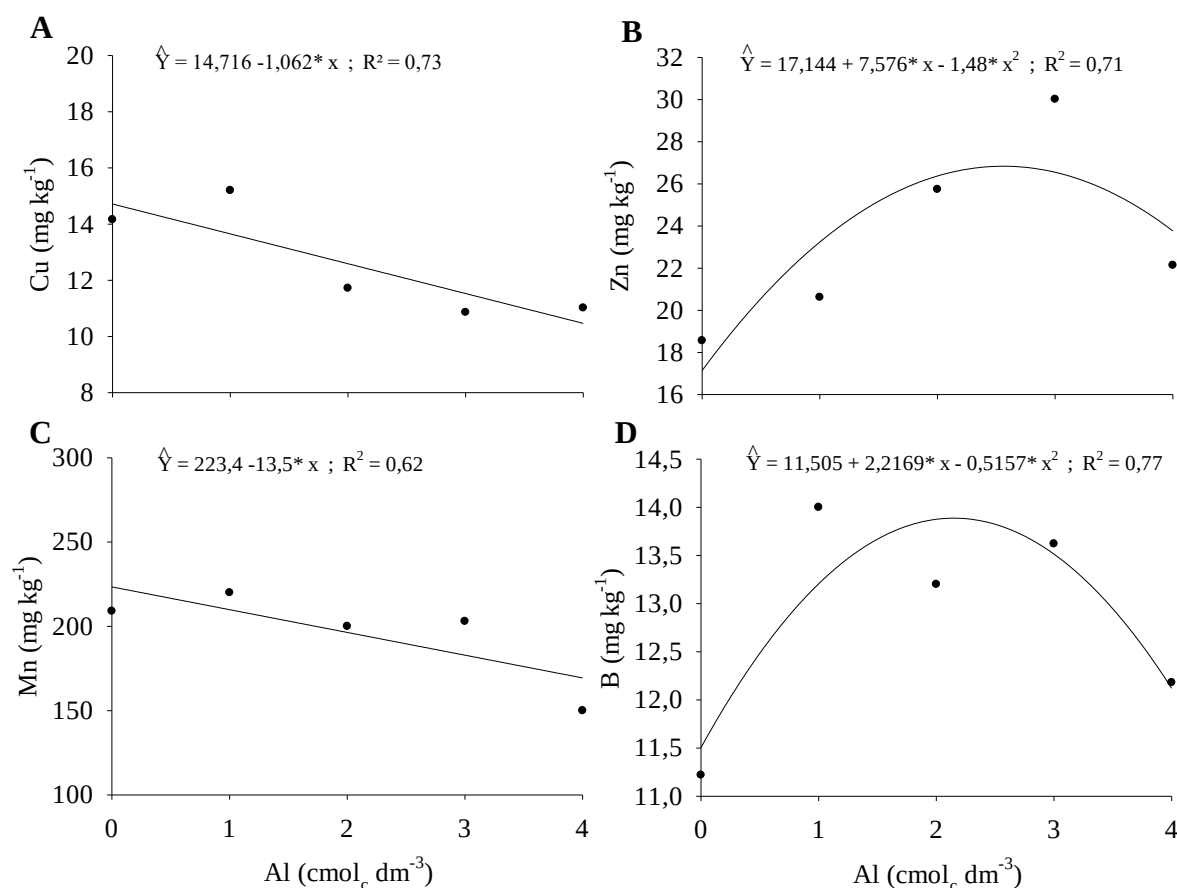


Figura 7. Teores de cobre (Cu) (A), zinco (Zn) (B), manganês (Mn) (C) e boro (B) (D) nas raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

3.3 Eficiência nutricional

3.3.1 Eficiência de absorção de nutrientes (EAN)

O alumínio impactou significativamente ($p < 0,05$) a EAN com respostas contrastantes entre os elementos avaliados (Figuras 8 e 9). O aumento das concentrações de Al elevou a eficiência de absorção de N, K e B (Figuras 8A, 8C e 9A) e reduziu a de Ca (Figura 8B). Em relação ao Mn e ao Zn, houve incremento da eficiência de absorção até concentrações intermediárias de Al, seguido de redução nos maiores teores (Figuras 9B e 9C). A resposta da eficiência de absorção de Fe e Cu foi marcada por redução inicial, com posterior estabilização e leve aumento sob maiores concentrações de Al (Figuras 9D e 9E). As eficiências de absorção de P, Mg e S não foram afetadas pelas concentrações de alumínio avaliadas ($p > 0,05$; dados não apresentados).

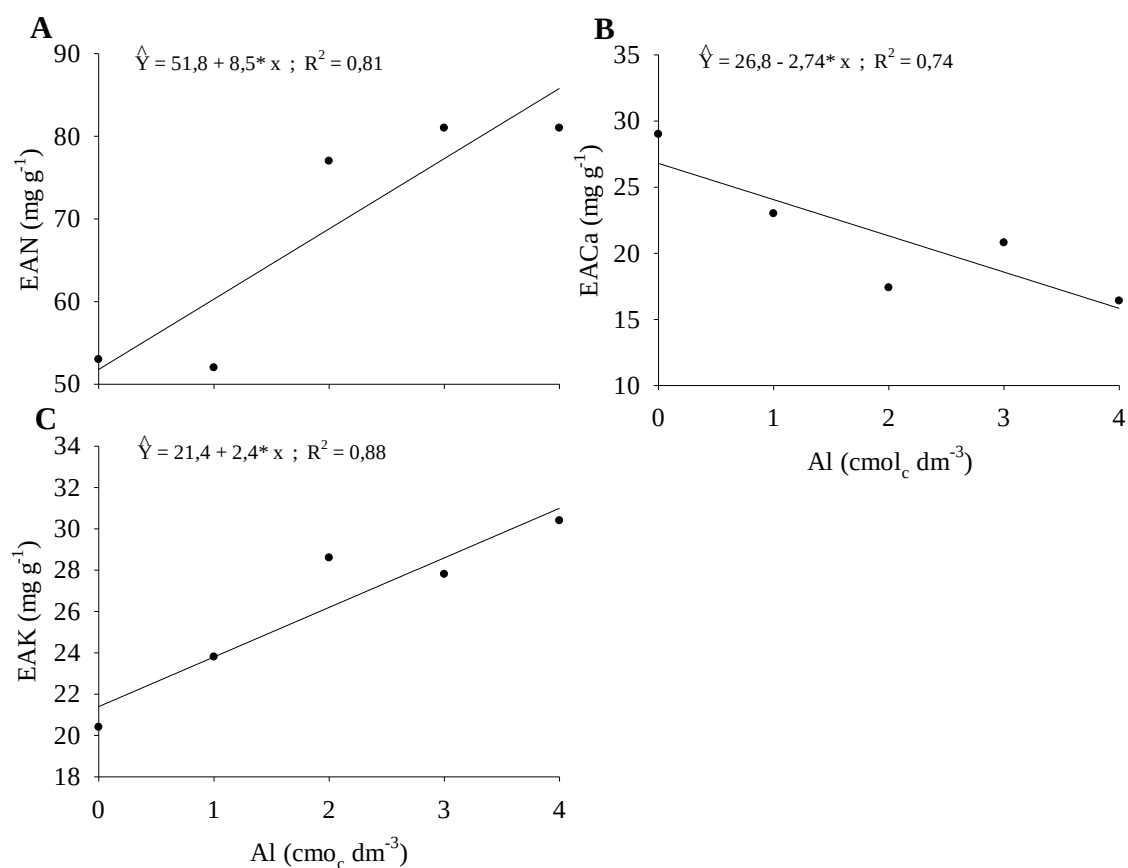


Figura 8. Eficiência de absorção de nitrogênio (EAN) (A), cálcio (EACa) (B) e potássio (EAK) (C) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

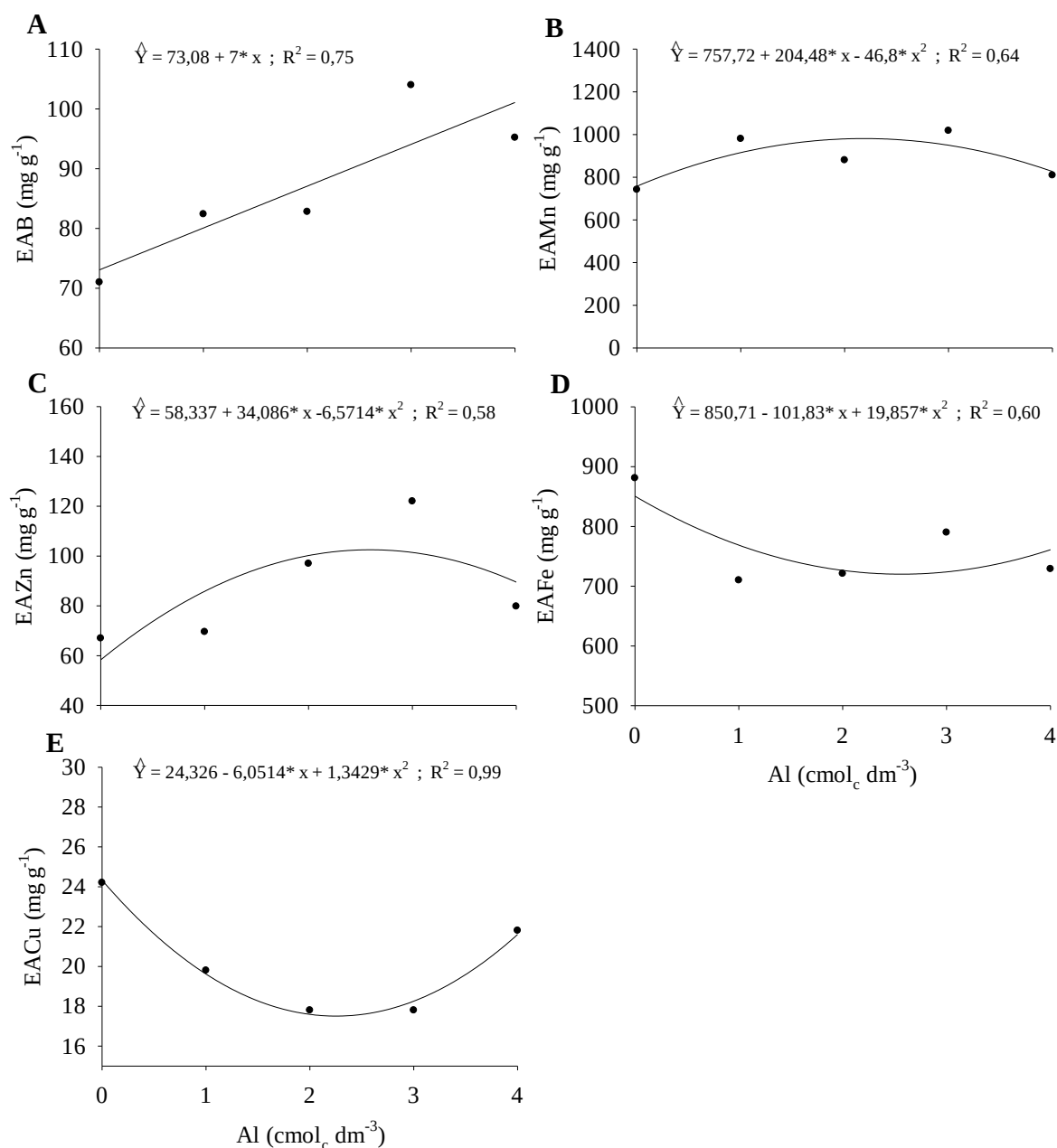


Figura 9. Eficiência de absorção de boro (EAB) (A), manganês (EAMn) (B), zinco (EAZn) (C), ferro (EAFé) (D) e cobre (EACu) (E) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al, após 240 dias de exposição aos tratamentos. $P < 0,05$.

3.3.2 Eficiência de uso de nutrientes (EUN)

O alumínio influenciou significativamente ($p < 0,05$) a eficiência de utilização dos nutrientes, evidenciando padrões distintos de resposta ao longo das concentrações avaliadas (Figuras 10 e 11). Para K, N e P, os pontos de máxima eficiência foram

observados nas menores e maiores concentrações de Al, enquanto os mínimos locais ocorreram em níveis intermediários (Figuras 10A, 10B e 10C). Em contraste, a máxima eficiência de utilização de Ca foi estimada em 1,71 cmol_c dm⁻³ de al, com redução nos extremos (Figura 10D).

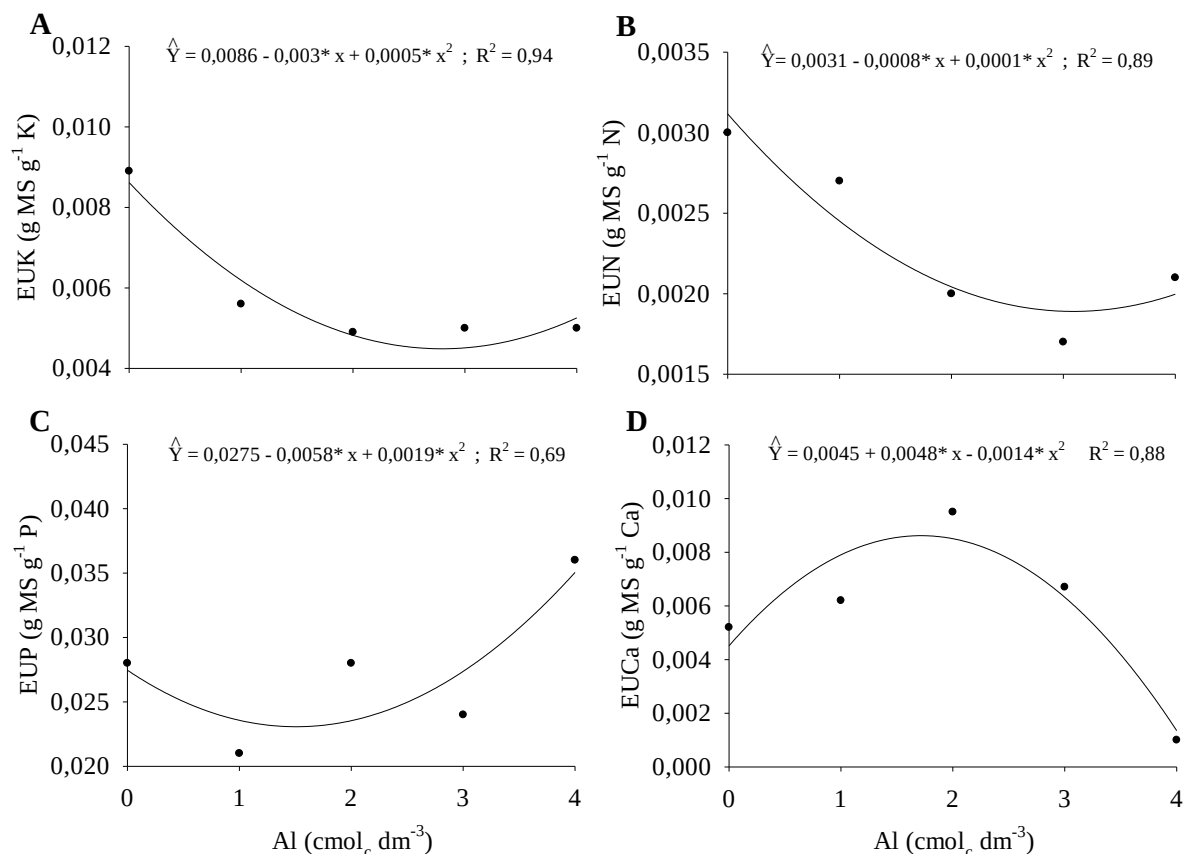


Figura 10. Eficiência de utilização de potássio (EUK) (A), nitrogênio (EUN) (B), fósforo (EUP) (C) e cálcio (EUCa) (D) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al, após 240 dias de exposição aos tratamentos. $P < 0,05$.

As eficiências de utilização dos micronutrientes B, Mn e Zn exibiram comportamento quadrático, com pontos de mínima eficiência em níveis intermediários e máximos nas menores e maiores concentrações de Al (Figuras 11A, 11B e 11C). As eficiências de utilização de Mg, S, Fe e Cu não foram significativamente afetadas pelas concentrações de alumínio avaliadas ($p > 0,05$; dados não apresentados).

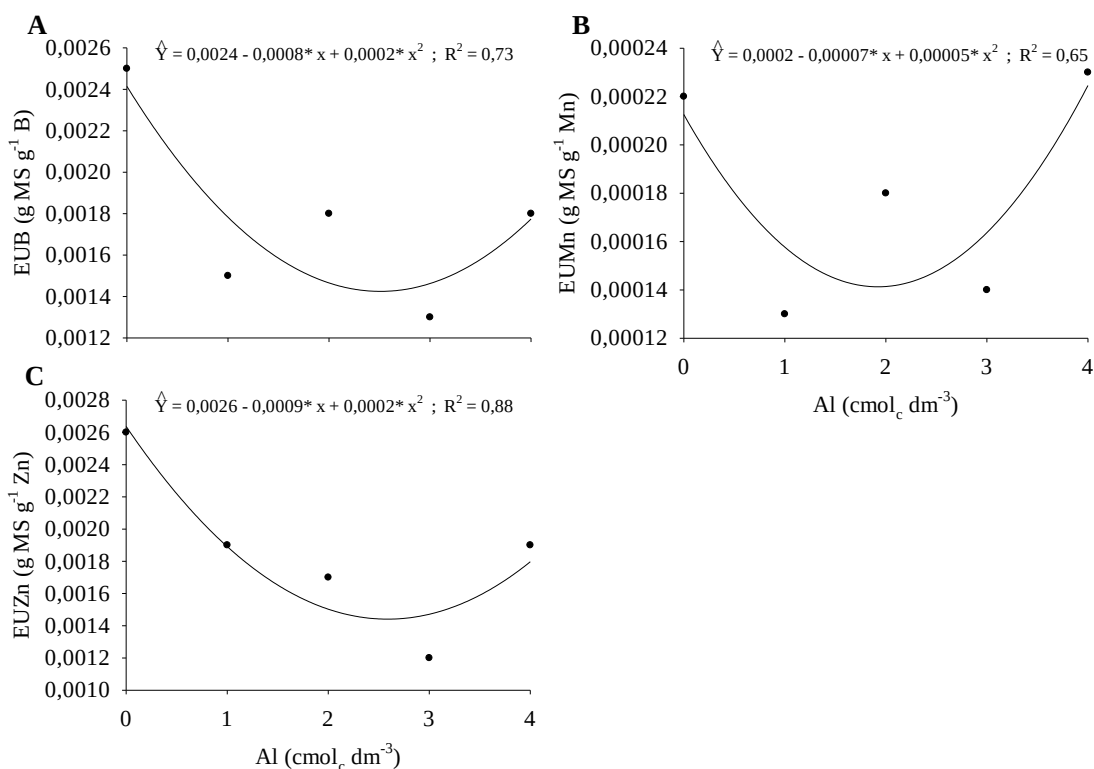


Figura 11. Eficiência de utilização de boro (EUB) (A), manganês (EUMn) (B) e zinco (EUZn) (C) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al, após 240 dias de exposição aos tratamentos. $P < 0,05$.

3.3.3 Eficiência de translocação de nutrientes (ETN)

Verificamos que o alumínio promoveu efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a eficiência de translocação de Ca, S, Fe e Cu para as folhas (Figura 12). Constatamos que a translocação de Ca e Fe foi reduzida com o aumento das concentrações de Al, estabilizando-se posteriormente com discreta elevação nos níveis mais altos (Figuras 12A e 12C). Observamos que a eficiência de translocação de S aumentou até a concentração de 2,9 cmol_c dm⁻³ de Al, ponto máximo estimado pelo modelo, seguido de redução nos teores mais elevados (Figura 12B). Identificamos ainda que a translocação de Cu aumentou linearmente em função dos teores de Al (Figura 12D). Os demais nutrientes não apresentaram alterações significativas na eficiência de translocação em resposta ao Al ($p > 0,05$; dados não apresentados).

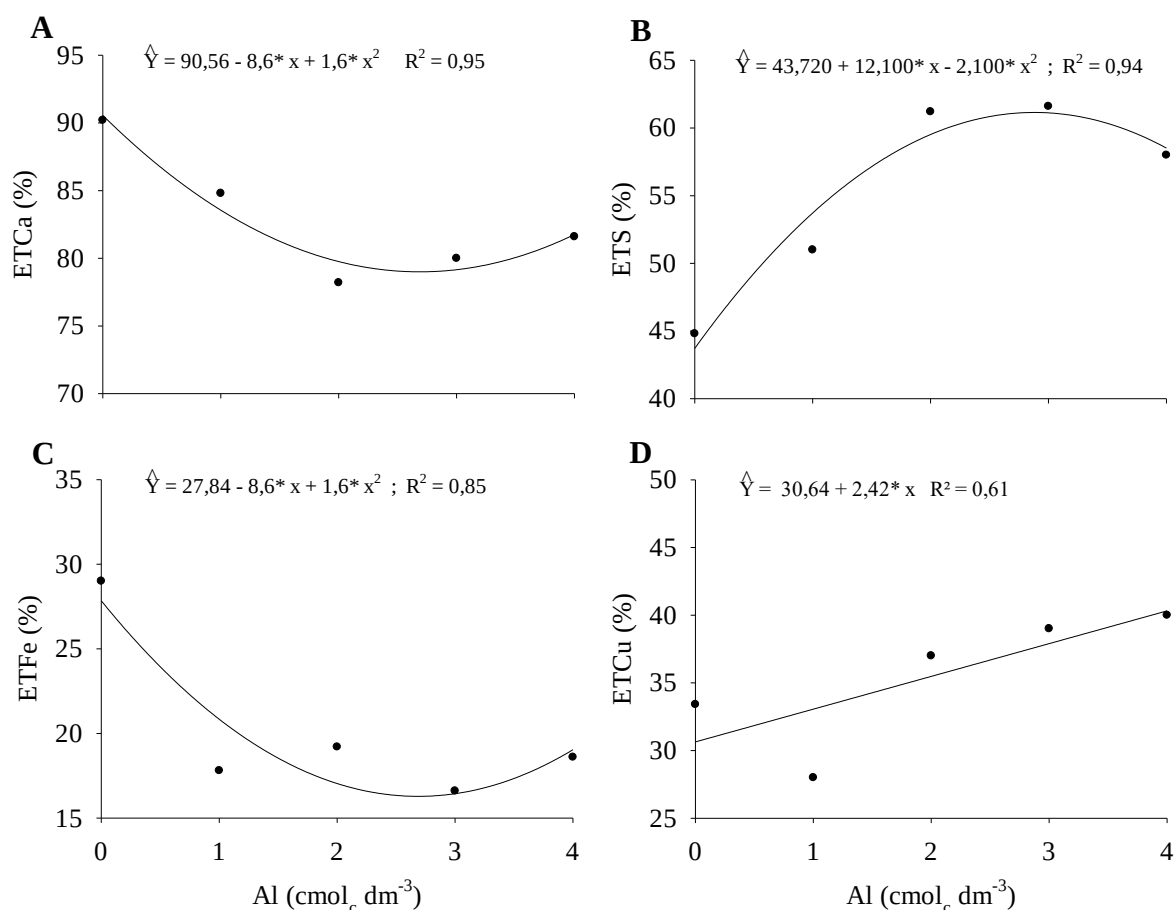


Figura 12. Eficiência de translocação de cálcio (ETCa) (A), enxofre (ETS) (B), ferro (ETFe) (C) e cobre (ETCu) (D) em *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5) em resposta a concentrações crescentes de Al, após 240 dias de exposição aos tratamentos. $P < 0,05$.

3.4 Teor, acúmulo e translocação de Al nas plantas

O aumento nas concentrações de alumínio no solo elevou significativamente ($p < 0,05$) os teores de Al nas raízes (Figura 13C), enquanto reduziu os teores nas folhas em níveis baixos e intermediários, com discreto aumento nas concentrações mais elevadas (Figura 13D). Observamos também que o acúmulo de Al nas folhas diminuiu em resposta às doses crescentes de alumínio (Figura 13B), ao passo que o acúmulo nas raízes não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$; dado não apresentado). Da mesma forma, verificamos que a translocação de Al para as folhas foi reduzida inicialmente, com posterior aumento em doses mais altas de Al (Figura 13A).

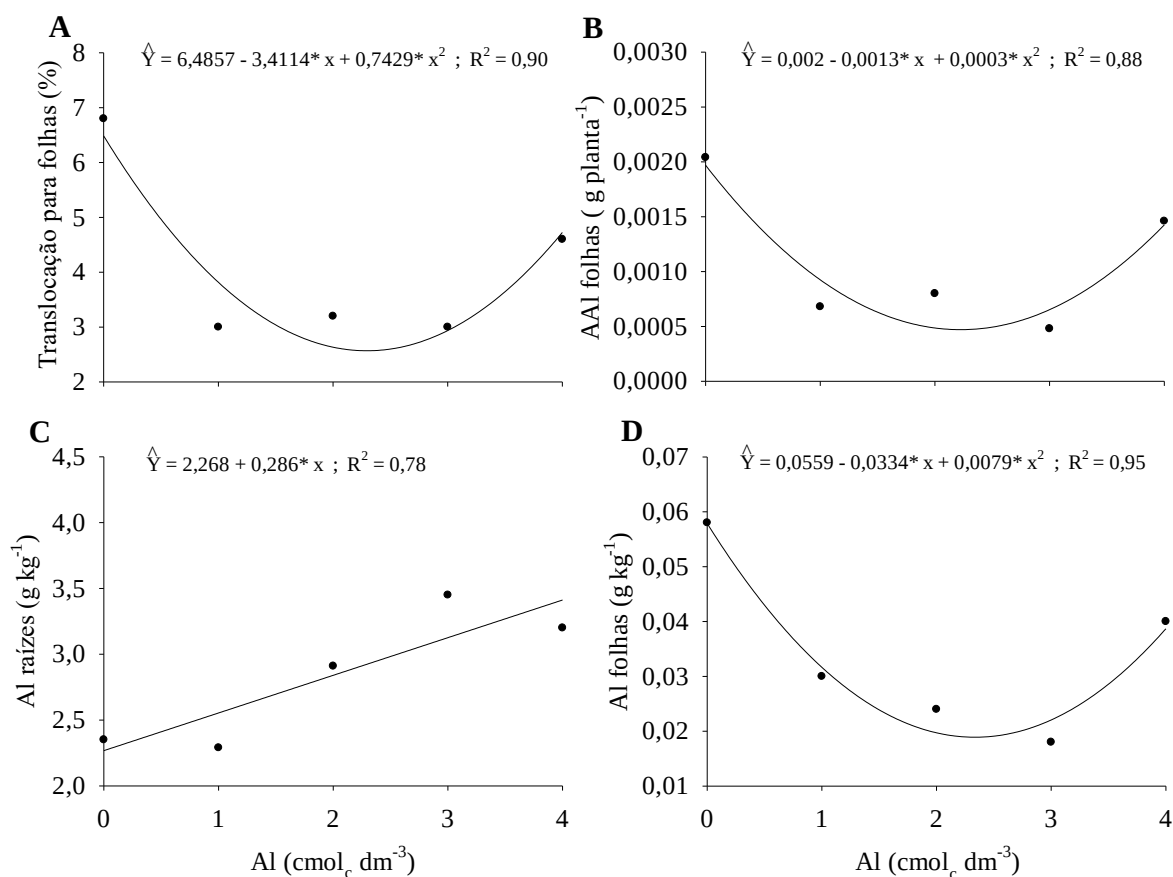


Figura 13. (A) eficiência de translocação para folhas (%), (B) acúmulo de Al nas folhas por planta (g·planta⁻¹), (C) concentração de Al nas raízes (g·kg⁻¹) e (D) concentração de Al nas folhas (g·kg⁻¹) em função dos teores de alumínio no solo (n = 5), após 240 dias, $P < 0,05$.

3.5 Sintomas da toxidez por Al em plantas de guaranazeiro cv. BRS Noçoquém

As características visuais das plantas evidenciaram a resposta do cultivar de guaranazeiro BRS Noçoquém ao aumento das concentrações de Al³⁺ (Figura 14). Até 2,0 cmol_c dm⁻³, as folhas mantiveram-se aparentemente normais, sem sintomas visíveis de toxidez, enquanto o sistema radicular já apresentava redução na densidade de raízes finas e menor ramificação. Em concentrações mais elevadas (3,0 e 4,0 cmol_c dm⁻³), os efeitos tornaram-se mais pronunciados, com acentuada redução do volume radicular, engrossamento das raízes principais e limitação da expansão da parte aérea.

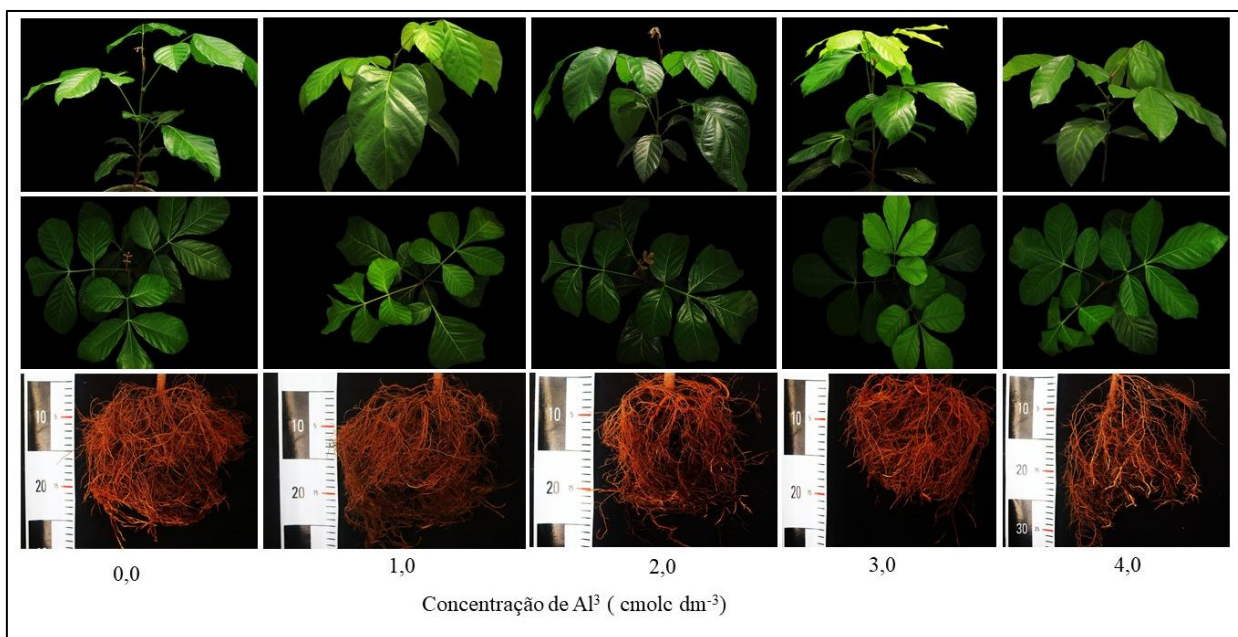


Figura 14. Aparência visual das plantas (fileira superior - vista lateral), folhas (fileira intermediária - vista superior) e raízes (fileira inferior) de guaranazeiro cv. BRS Noçoquém sob diferentes concentrações de Al registradas aos 240 dias após o início dos tratamentos. Da esquerda para a direita: 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al.

3.6 Teor de prolina

As concentrações de Al promoveram aumento linear significativo no teor de prolina nas raízes do guaranazeiro cv. BRS Noçoquém ($p < 0,05$) (Figura 15). O modelo ajustado explicou 92% da variação dos dados, com incremento estimado de $14 \mu\text{mol g}^{-1}$ MS para cada aumento unitário na concentração de Al. Pela equação de regressão, o teor de prolina radicular aumentou de $139,4 \mu\text{mol g}^{-1}$ MS, na ausência de Al, para $195,4 \mu\text{mol g}^{-1}$ MS na concentração de $4 \text{ cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al. Em contraste, o teor de prolina na parte aérea não foi significativamente afetado pelas concentrações de Al.

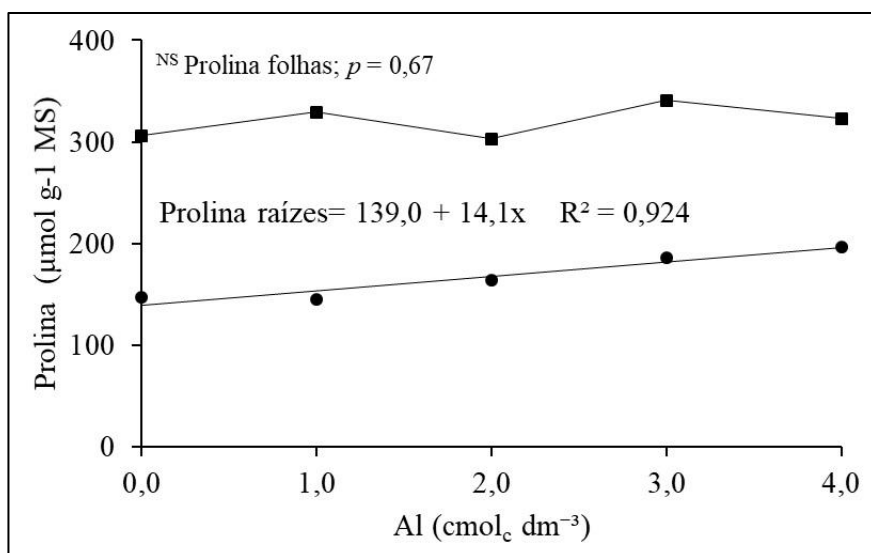


Figura 15. Teor de prolina nas folhas e raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. ^{ns} Indica diferença não significativa com $p < 0,05$.

3.7 Variáveis de crescimento

As concentrações crescentes de alumínio afetaram significativamente ($p < 0,05$) o crescimento das plantas (Figura 16). A MST e a MSR apresentaram redução até concentrações intermediárias de Al, (Figuras 16A e 16B), sendo estimadas perdas de 10% em relação ao controle a partir de 0,57 e 0,48 cmol_c dm⁻³ de Al, respectivamente. A TCR em diâmetro e o volume de raízes diminuíram linearmente com o aumento das concentrações de alumínio (Figuras 16C e 16E). Por outro lado, a TCR em altura e a área foliar aumentaram em baixas concentrações de Al e decresceram a partir de 0,60 e 0,54 cmol_c dm⁻³, respectivamente (Figuras 16D e 16F).

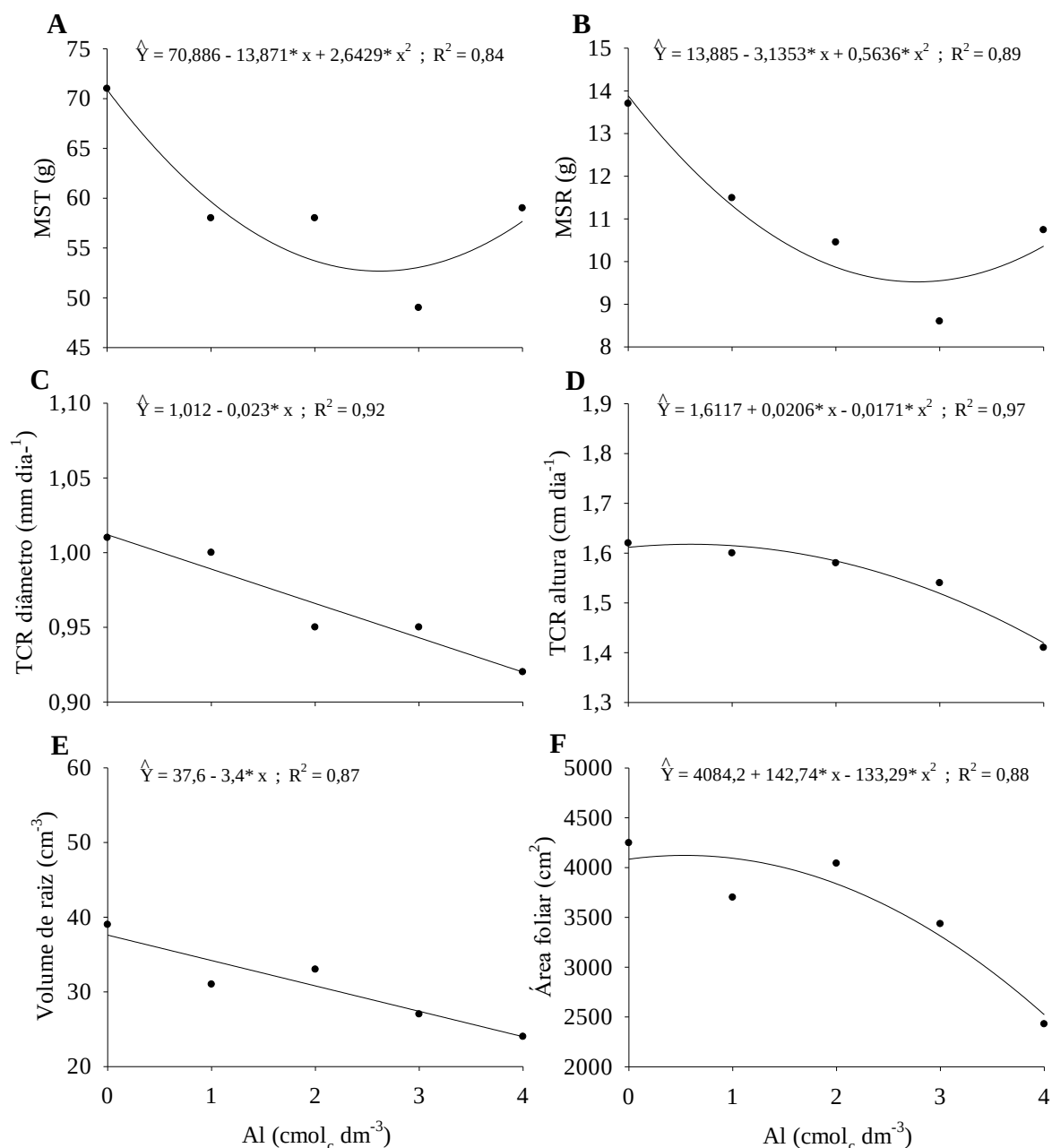


Figura 16. Massa seca total (MST) (A), massa seca de raízes (MSR) (B), taxa de crescimento relativo em diâmetro (TCR diâmetro) (C), taxa de crescimento relativo em altura (TCR altura) (D), volume de raízes (E) e área foliar (F) de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém (n = 5), após 240 dias de exposição a concentrações crescentes de alumínio. * Indica diferença significativa com $p < 0,05$ pelo teste de regressão.

3.8 Morfologia e anatomia das raízes de plantas de guaranazeiro cv. Noçoquém

Nas secções transversais das raízes de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém, observamos organização compatível com estrutura secundária, com xilema primário localizado na região mais interna do cilindro vascular, seguido por xilema

secundário bem desenvolvido, constituído por células parenquimáticas e elementos de vaso distribuídos ao longo do tecido (Figura 17B, E, H, K e N). Externamente ao xilema secundário, observou-se o floema secundário e, na porção mais externa, a periderme (Figura 17C, F, I, L e O). Além da avaliação qualitativa das secções histológicas, foram realizadas mensurações microanatômicas para quantificar as variações estruturais entre os tratamentos e conferir maior robustez à análise das alterações anatômicas induzidas pelo Al. Dessa forma, procedeu-se à mensuração da espessura do xilema e do floema, permitindo a quantificação das modificações anatômicas do sistema vascular radicular sob diferentes concentrações de Al. A espessura média dos tecidos radiculares variou entre o controle e os tratamentos avaliados, conforme ilustrado na Figura 18, com os valores detalhados no Apêndice A.

O xilema radicular apresentou maior espessura nas plantas cultivadas com alumínio em comparação ao controle, correspondente à ausência de Al. Na ausência de alumínio, a espessura média do xilema foi de 2.076 μm , enquanto nos tratamentos com 1,0, 2,0, 3,0 e 4,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al os valores médios foram de 2.305, 2.665, 2.549 e 2.125 μm , respectivamente, representando aumentos de aproximadamente 11,0%, 28,4%, 22,8% e 2,4% em relação ao controle (Figura 18). O floema radicular, por sua vez, apresentou menor espessura nos tratamentos com alumínio em relação ao controle. Na ausência de Al, a espessura média do floema foi de 660 μm , enquanto nos tratamentos com 1,0, 2,0, 3,0 e 4,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al os valores médios foram de 565, 572, 413 e 653 μm , respectivamente, correspondendo a reduções de aproximadamente 14,4%, 13,3%, 37,4% e 1,1% em relação ao controle (Figura 18).

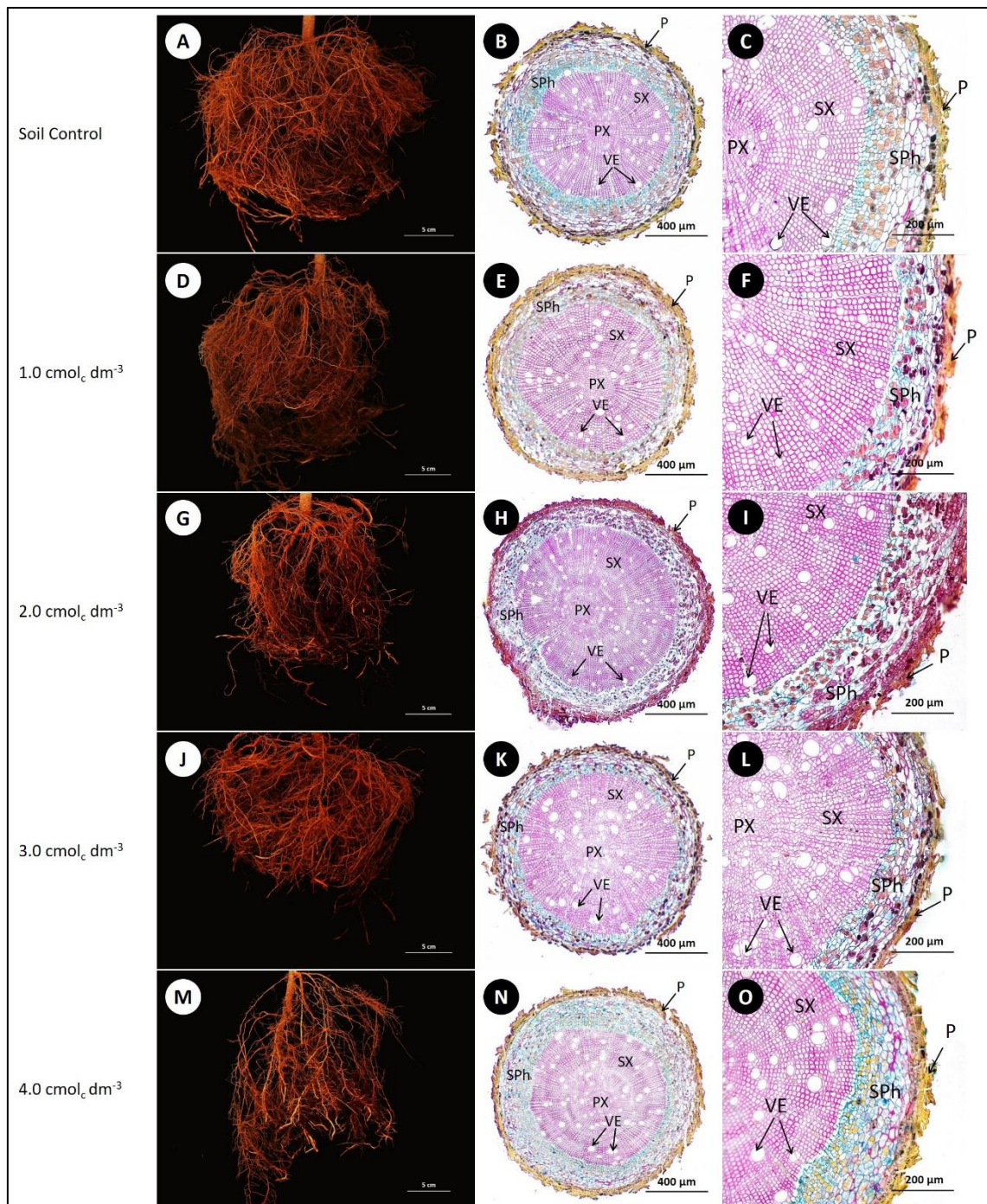


Figura 17. Caracterização morfológica e anatômica do sistema radicular de plantas de guaranazeiro cv. Noçoquém cultivadas sob concentrações crescentes de alumínio no solo. A, D, G, J, M: aspecto geral das raízes. B, E, H, K, N: seções transversais evidenciando a organização estrutural dos tecidos radiculares. C, F, I, L, O: ampliações mostrando detalhes do sistema vascular. P: periderme; SPh: floema secundário; SX: xilema secundário; PX: xilema primário; VE: elementos de vaso.

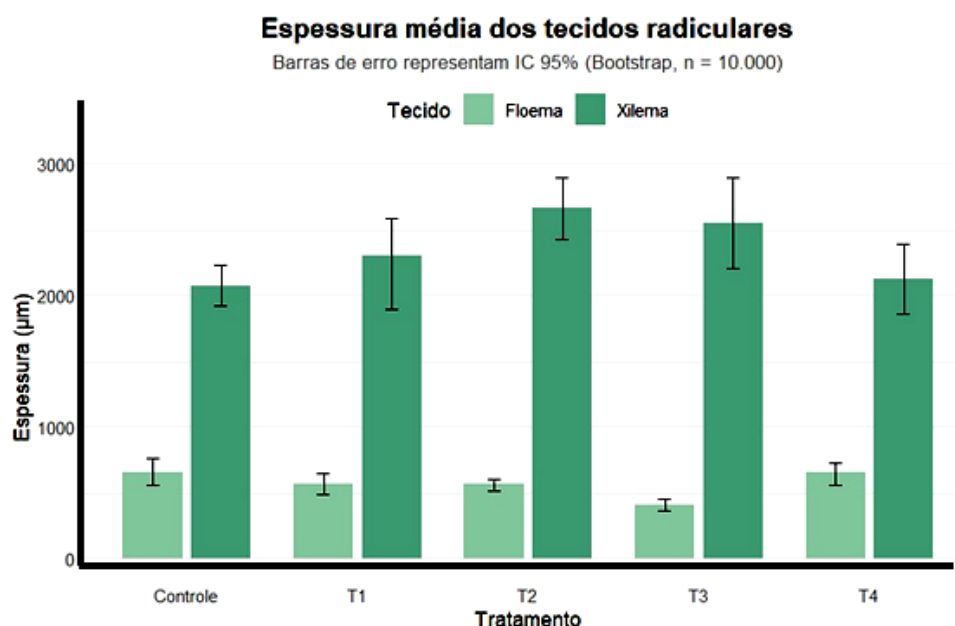


Figura 18. Espessura média dos tecidos vasculares radiculares (floema e xilema) de plantas de guaranazeiro cultivadas sob diferentes doses de alumínio no solo (0, 1, 2, 3 e 4 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al). As barras representam a média dos tratamentos e as barras de erro indicam o intervalo de confiança de 95% obtido por bootstrap (n = 10.000).

3.9 Aspectos morfológicos e anatômicos de folíolos de guaranazeiro cv. BRS Noçoquém

A lâmina foliar apresentou epiderme unisseriada nas faces adaxial e abaxial e mesófilo dorsiventral, constituído por parênquima paliçádico e parênquima lacunoso (Figura 19C, F, I, L e O). A nervura central exibiu conformação côncavo-convexa, com xilema voltado para a face adaxial e floema para a face abaxial (Figura 19B, E, H, K e N). Assim como para as raízes, foram realizadas mensurações microanatômicas nas folhas a fim de quantificar as variações estruturais entre os tratamentos e conferir maior robustez à avaliação das alterações anatômicas associadas à exposição ao alumínio. O diâmetro da nervura central foi substancialmente maior no tratamento controle, correspondente à ausência de Al, com média de 5.922,6 μm (Figura 20A). Nos tratamentos com 1,0, 2,0, 3,0 e 4,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al, os valores médios foram de 862,9, 861,7, 936,2 e 899,0 μm , respectivamente, o que correspondeu a reduções de aproximadamente 85,4%, 85,4%, 84,2% e 84,8% em relação ao controle.

Para o parênquima paliçádico, não foi observado um padrão monotônico de resposta às concentrações de alumínio. Em relação ao controle (25,8 μm), houve aumento da espessura apenas em T1, com média de 28,4 μm , representando incremento de 10,1% (Figura 20B). Nos demais tratamentos, os valores médios foram inferiores ao controle,

com 23,1 μm em T2, 20,1 μm em T3 e 24,3 μm em T4, correspondendo a reduções de 10,5%, 22,1% e 5,8%, respectivamente. Em contraste, o parênquima esponjoso apresentou tendência predominante de espessamento em relação ao controle (26,2 μm), com exceção de T3. Os valores médios observados em T1, T2 e T4 foram de 30,7, 29,3 e 35,3 μm , respectivamente, equivalendo a incrementos de 17,2%, 11,8% e 34,7% em relação ao controle (Figura 20B). Apenas em T3 foi registrada redução da espessura, com média de 21,9 μm , o que representa decréscimo de 16,4%.

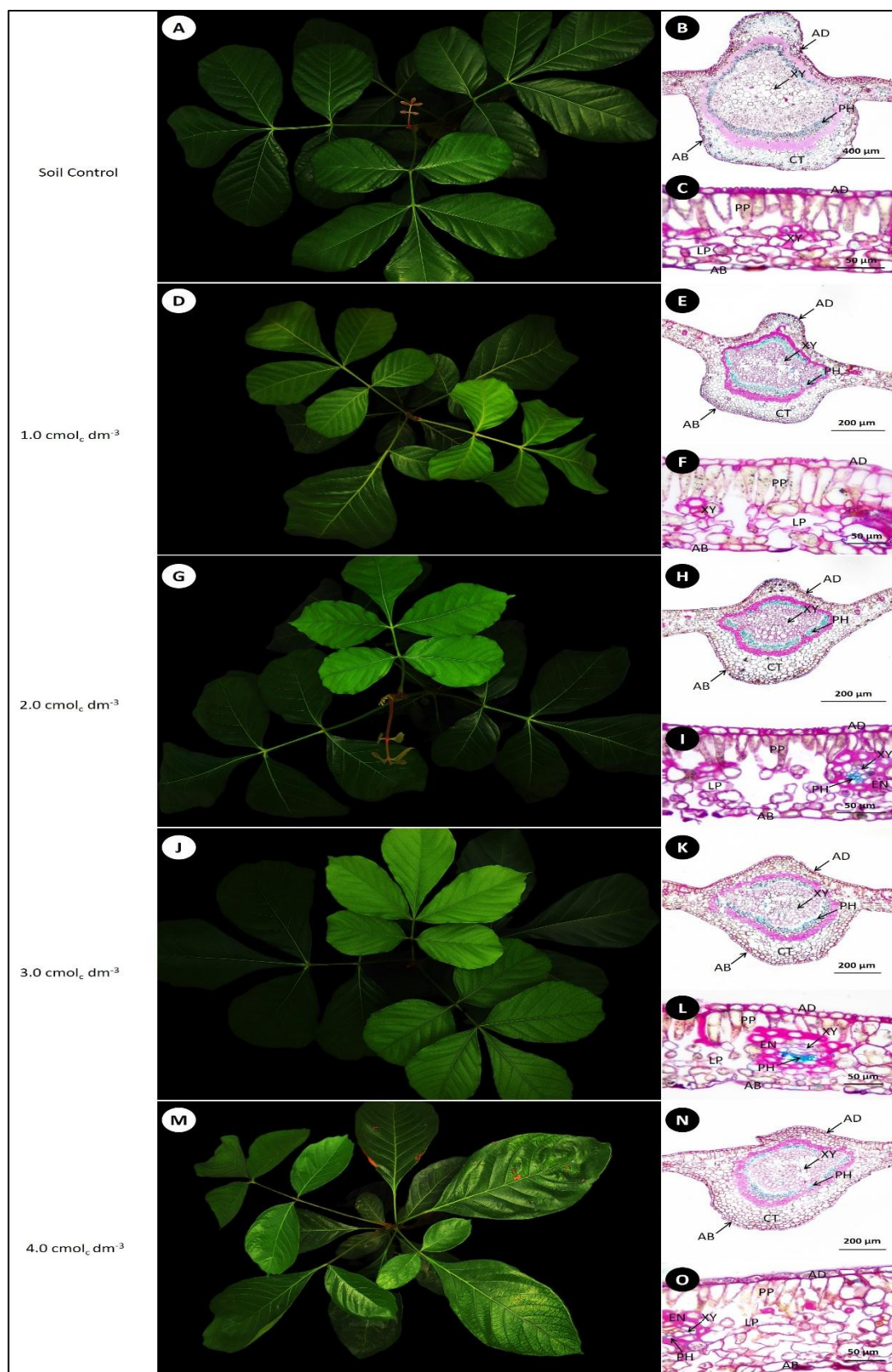


Figura 19. Morfologia foliar e organização anatômica de folhas de plantas de guaranazeiro cv. Noçoquém cultivadas sob diferentes concentrações de alumínio no solo. A, D, G, J, M: aspecto geral da parte aérea evidenciando o padrão de crescimento e a conformação das folhas. B, E, H, K, N: seções transversais da lâmina foliar, destacando

a estrutura do mesofilo e dos tecidos vasculares. C, F, I, L, O: detalhes anatômicos em maior aumento. AD: face adaxial; AB: face abaxial; PP: parênquima paliçádico; LP: parênquima lacunoso; CT: tecido vascular; X: xilema; PH: floema.

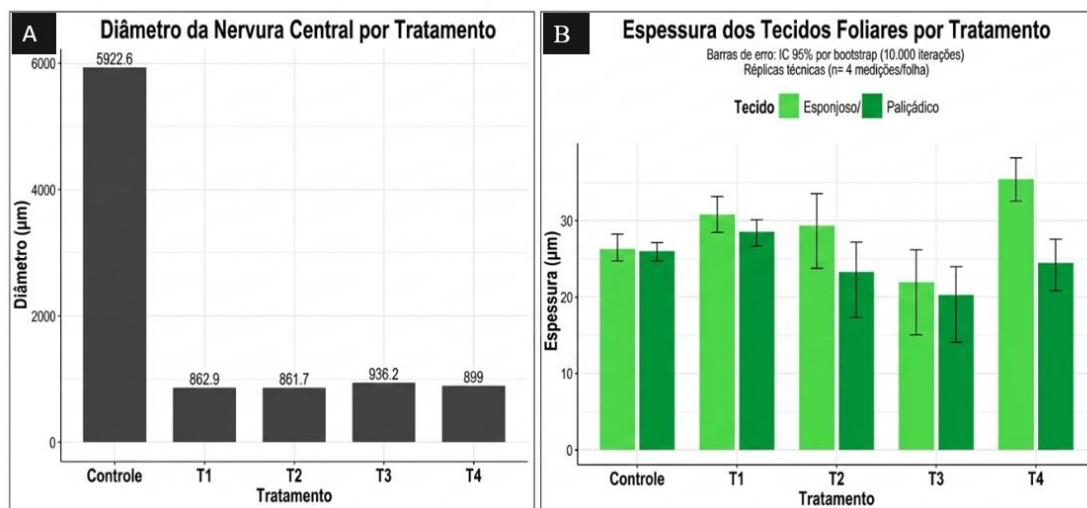


Figura 20. Diâmetro da nervura central (A) e espessura do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso (B) em folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém submetidas a 0, 1, 2, 3 e 4 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al, correspondentes ao controle, T1, T2, T3 e T4, respectivamente. As barras de erro representam os intervalos de confiança de 95% estimados por bootstrap (10.000 iterações), com $n = 4$ medições por folha.

3.10 Análise multivariada

A análise de componentes principais (PCA) indicou que as duas primeiras componentes explicaram 47,22% da variância total dos dados, sendo 27,41% atribuídos à PC1 e 19,81% à PC2 (Figura 21). Observamos separação entre o tratamento-controle e as menores doses de Al em relação às maiores concentrações, com a dose intermediária ocupando posição de transição. As variáveis massa seca total, área foliar, volume radicular, Mg foliar, P foliar e eficiência de translocação de Ca associaram-se ao controle e às menores doses, enquanto Al radicular, translocação de Al, prolina radicular, prolina foliar e eficiência de uso de P se orientaram na direção dos tratamentos com maior concentração de alumínio. A análise discriminante canônica (CDA) mostrou elevado poder discriminatório, com as duas primeiras funções canônicas explicando 94,09% da separação total (Can1 = 64,29%; Can2 = 29,80%) (Figura 22). A Can1 separou claramente o controle e a menor dose de Al, posicionados em valores negativos, dos tratamentos com maiores concentrações, em valores positivos, sendo eficiência de uso de P e Al radicular as variáveis com maior contribuição positiva, e massa seca total e

eficiência de translocação de Ca as de maior contribuição negativa. A Can2 foi influenciada principalmente por Al foliar, com contribuição positiva, e por translocação de Al, com contribuição negativa. Em conjunto, as análises multivariadas evidenciaram que o alumínio promoveu alterações integradas no crescimento, na nutrição mineral e nos marcadores de estresse, sendo massa seca total, Al radicular, eficiência de uso de P e eficiência de translocação de Ca as variáveis mais relevantes na discriminação dos tratamentos.

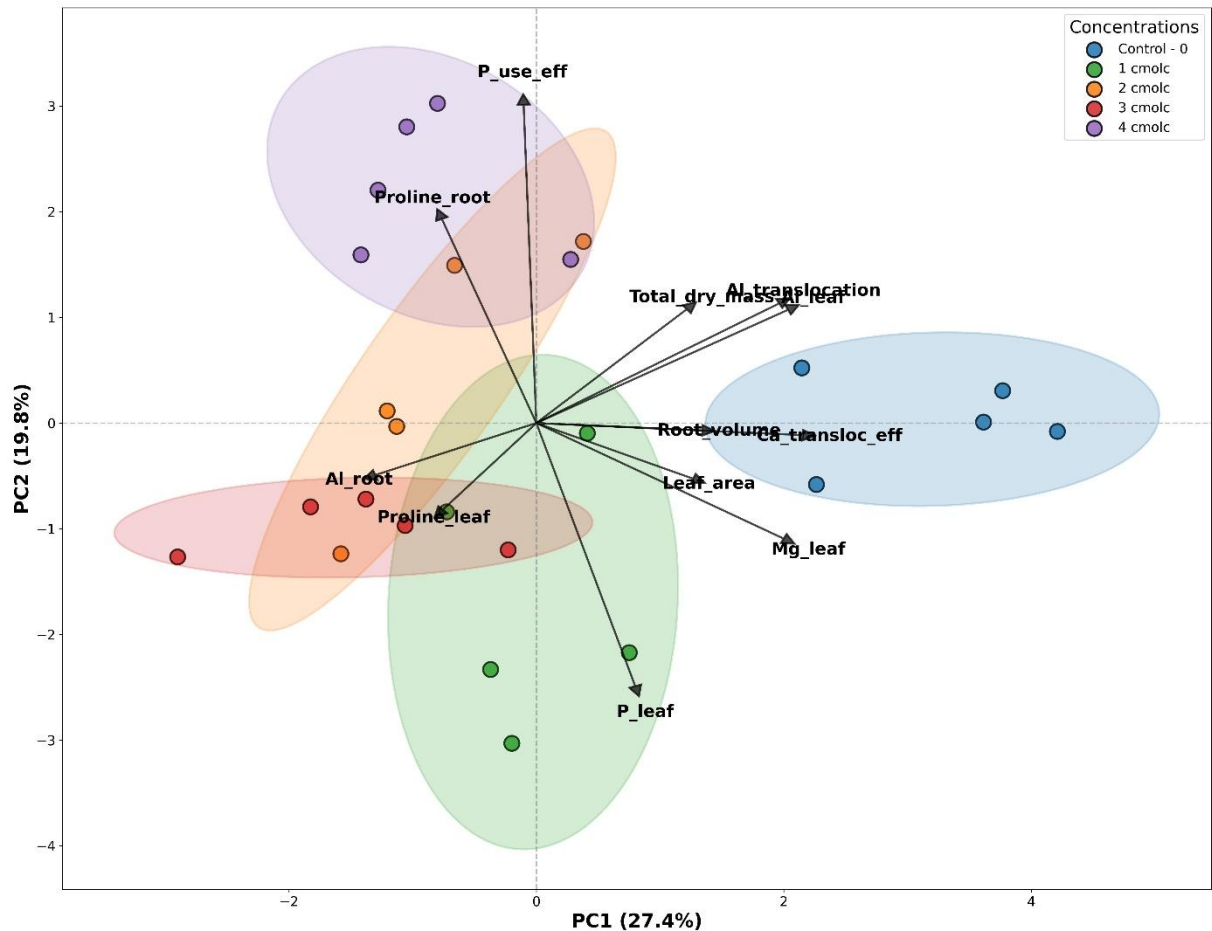


Figura 21. Biplot da análise de componentes principais (PCA) de (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém) submetidas a concentrações crescentes de alumínio. Os pontos representam as unidades experimentais, coloridas de acordo com os tratamentos

(controle (0), 1, 2, 3 e 4 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al), e as elipses indicam a dispersão dos grupos. Os vetores representam as variáveis associadas à ordenação multivariada.

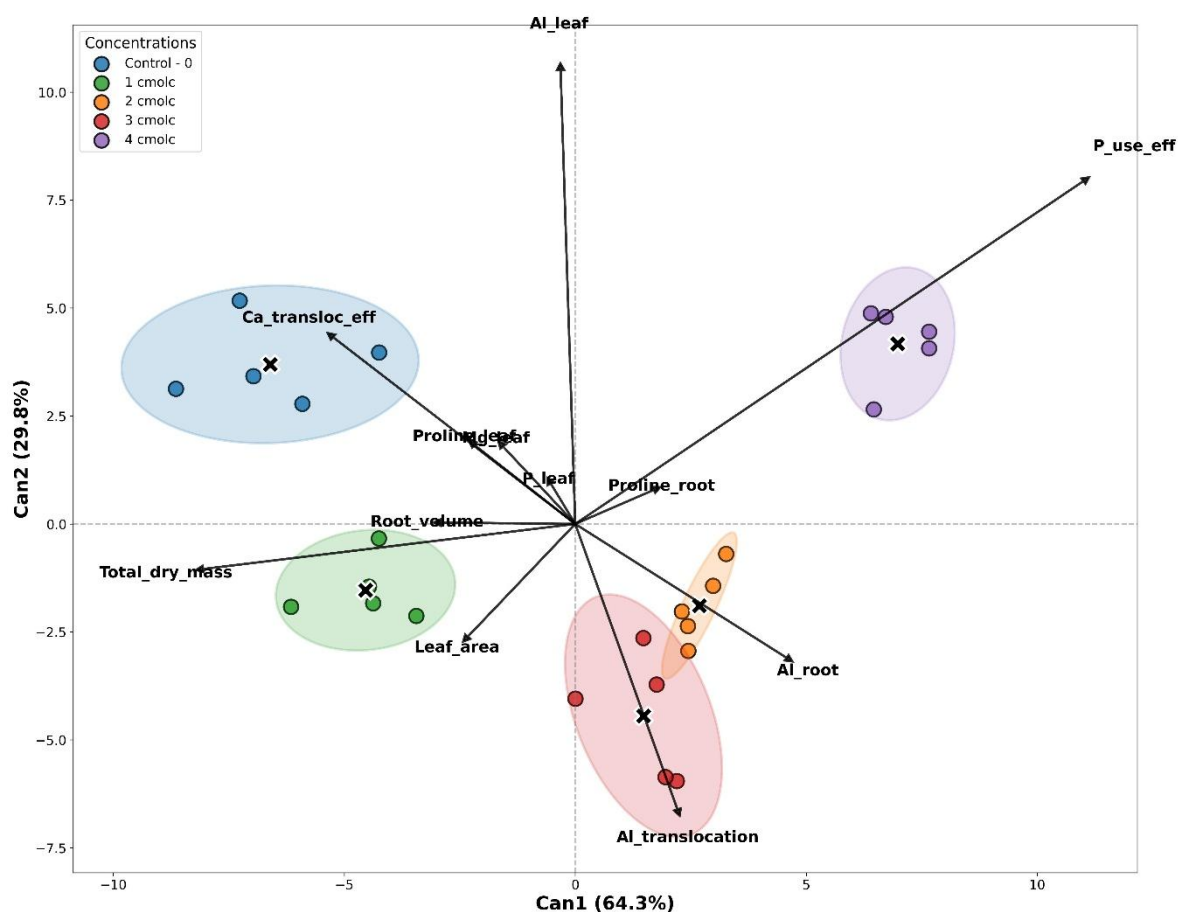


Figura 22. Análise discriminante canônica (CDA) de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém) submetidas a concentrações crescentes de alumínio. Os pontos representam as unidades experimentais, coloridas de acordo com os tratamentos (controle, 1, 2, 3 e 4 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al), e as elipses indicam a dispersão dos grupos. Os vetores correspondem aos coeficientes de estrutura das variáveis que contribuíram para a discriminação entre os tratamentos.

4. DISCUSSÃO

A toxicidade do Al é reconhecida como uma das principais limitações à produtividade agrícola em solos ácidos (Ma et al., 2002; Kochian et al., 2015). Embora seus efeitos sejam amplamente descritos em espécies cultivadas de interesse agrônomo (Delhaize & Ryan, 1995; Sade et al., 2016), ainda há poucas informações sobre os efeitos do Al no crescimento, na nutrição mineral e nas respostas fisiológicas de culturas nativas da Amazônia, como *Paullinia cupana* var. *sorbilis*. Buscando avançar nessa lacuna,

avaliamos os efeitos de concentrações crescentes de Al na cv. BRS Noçoquém e demonstramos que a cultivar responde ao estresse por uma combinação de elevada sensibilidade radicular, retenção preferencial de Al nas raízes, aumento de prolina radicular e desorganização seletiva da nutrição mineral. Entre os principais achados, destacamos a definição da concentração crítica agronômica acima de $0,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Al no solo para variáveis de crescimento, a forte participação de P e Ca na resposta nutricional ao estresse e a remodelação vascular de raízes e folhas. Por se tratar do primeiro estudo dessa natureza na cv. BRS Noçoquém, e possivelmente em *Paullinia cupana* var. *sorbilis*, os resultados trazem novidade científica e oferecem um conjunto de marcadores promissores para orientar o manejo da cultura em solos ácidos e apoiar programas de seleção de genótipos mais tolerantes.

4.1 Crescimento e sistema radicular

Conforme estudos que reconhecem o Al^{3+} como um dos principais fatores limitantes ao crescimento vegetal em solos ácidos, especialmente por ter o sistema radicular como primeiro sítio de ação e dano (Delhaize & Ryan, 1995; Ma & Ryan, 2010; Kopittke et al., 2015), verificamos que a exposição ao Al comprometeu o crescimento das plantas. Esse efeito foi evidenciado pela redução da biomassa total, sobretudo a partir de concentrações acima de $0,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Al^{3+} , indicando sensibilidade inicial do cultivar ao estresse. Os efeitos mais pronunciados ocorreram no sistema radicular, com reduções no volume de raízes, na massa seca radicular e na densidade de raízes finas (Figuras 14 e 16B e E). Apesar das reduções observadas, destacamos que as plantas de guaranazeiro mantiveram desenvolvimento vegetativo mesmo sob concentrações elevadas de Al, com crescimento ainda observado até o limite das concentrações avaliadas ($4 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$). Esse resultado sugere que, embora *Paullinia cupana* var. *sorbilis* cv. BRS Noçoquém apresente sensibilidade inicial ao Al, a espécie pode possuir mecanismos parciais de tolerância ou adaptação ao ambiente ácido, onde é naturalmente cultivada (Foy, 1984; Fageria & Baligar, 2008). Esses mecanismos provavelmente estão associados à restrição da translocação do Al à imobilização do elemento nas raízes, à exclusão do Al da região apical ou à ativação de respostas fisiológicas e bioquímicas capazes de reduzir os danos celulares. Tal comportamento é relevante quando comparado a espécies agrícolas amplamente melhoradas, como milho e soja, nas quais a presença de Al em solução geralmente provoca reduções mais severas no crescimento radicular, na

absorção de nutrientes e na produção de biomassa (Batista et al., 2013; Silva et al., 2020). Nesse sentido, nossos resultados sugerem que o Al afetou negativamente o crescimento do guaranazeiro, mas não impediu completamente o estabelecimento das plantas, indicando certo grau de tolerância fisiológica do cultivar, possivelmente relacionado à adaptação da espécie às condições de acidez dos solos da Amazônia (Fageria & Baligar, 2008). Esse comportamento está de acordo com revisões recentes que destacam a variabilidade interespecífica e intraespecífica na resposta ao Al, bem como a importância de mecanismos radiculares de exclusão, compartimentalização e detoxificação na tolerância (Sade et al., 2016; Bojórquez-Quintal et al., 2017; Ofoe et al., 2023).

Em nosso estudo, é possível confirmar o modelo clássico de toxidez por Al, no qual o cátion atua principalmente por alterações severas no sistema radicular, sendo o ápice da raiz uma das regiões mais sensíveis (Kopittke & Blamey, 2016). O Al^{3+} interfere diretamente na divisão e no alongamento celular, promovendo alterações na organização dos tecidos radiculares, espessamento e maior rigidez da parede celular (Yan et al., 2018; Zhu et al., 2019), em decorrência de sua interação com diferentes componentes estruturais (Buchanan et al., 2015; Silva et al., 2020). As paredes celulares, por apresentarem grupos funcionais com cargas negativas, especialmente carboxílicos e fosfatos, possuem elevada afinidade pelo Al^{3+} , favorecendo sua rápida adsorção na epiderme e no córtex radicular (Geng et al., 2017; Wu et al., 2022). Como consequência, há comprometimento da plasticidade da parede celular e restrição da expansão, o que contribui para a redução do crescimento radicular (Horst et al., 2010; Yang et al., 2013). Essa afinidade do Al^{3+} pelos grupos fosfato da parede celular se conecta com a redução no teor e no acúmulo de P nas raízes observada no presente estudo com o aumento das doses de Al, uma vez que o Al^{3+} pode se ligar diretamente a esses sítios, reduzindo a disponibilidade do P para absorção e incorporação nos tecidos radiculares. Além dos efeitos estruturais, o Al^{3+} pode afetar processos metabólicos e celulares essenciais. Entre eles, destacam-se alterações na atividade respiratória, na funcionalidade das membranas plasmáticas e na atividade de enzimas envolvidas na deposição e reorganização de polissacarídeos da parede celular (Foy, 1974; Foy et al., 1978; Kochian et al., 2004). O Al também pode interferir em processos nucleares, reduzindo a replicação do DNA em função de alterações na estabilidade e na conformação da dupla hélice, reforçando seu papel como inibidor da divisão celular (Zhang et al., 2014; Eekhout et al., 2017). Esses danos combinados reduzem a capacidade de formação e alongamento de novas raízes, limitando a absorção de água e nutrientes. Dessa forma, a menor absorção e utilização de elementos como Ca,

Mg e P pode estar associada tanto à redução física do sistema radicular quanto aos efeitos diretos do Al sobre membranas, metabolismo energético e processos de transporte iônico (Foy, 1974; Foy et al., 1978; Kochian et al., 2004).

4.2 Retenção radicular de Al e prolina como resposta ao estresse

A exposição ao Al^{3+} estimulou o acúmulo de prolina, sobretudo nas raízes (Figura 15), sugerindo que o aumento da disponibilidade do metal intensificou o estresse metabólico radicular e ativou mecanismos bioquímicos de proteção. Em contraste, o acúmulo de prolina nas folhas não foi significativo, reforçando que o principal sinal bioquímico de estresse permaneceu restrito ao sistema radicular. A prolina é amplamente reconhecida como osmoprotetor e antioxidante não enzimático (Gill & Tuteja, 2010), com funções na estabilização de proteínas e membranas, manutenção do equilíbrio osmótico e mitigação de danos oxidativos em plantas sob estresses abióticos (Kaur & Asthir, 2015; Rejeb et al., 2014; Sharma et al., 2019). Esse aumento radicular é coerente com o fato de o sistema radicular ser o principal sítio de contato e dano pelo Al^{3+} , já que grande parte do metal tende a permanecer retida no apoplasto, especialmente ligada à parede celular e à matriz péctica (Doncheva et al., 2005), sendo translocada lentamente para tecidos centrais (Frantzios et al., 2005). Essa retenção pode funcionar como mecanismo parcial de tolerância, reduzindo a translocação para a parte aérea, embora contribua para danos locais nas raízes.

Situações estressoras como a toxicidade por Al^{3+} desencadeiam perturbações metabólicas, incluindo a geração excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, caracterizando o estresse oxidativo que danifica biomoléculas vitais e pode levar à morte celular (Mittler, 2002; Sies & Jones, 2020). Para lidar com essas condições, as plantas recorrem a mecanismos adaptativos como a produção de antioxidantes e osmoprotetores, entre os quais a prolina ocupa papel de destaque (Sharma et al., 2019; Zulfiqar et al., 2020a). Em genótipos tolerantes de cana-de-açúcar, Mantovanini et al. (2019) observaram que a tolerância ao Al estava associada ao incremento nos níveis de prolina sob altas concentrações de Al^{3+} . Resultado semelhante foi encontrado por Carvalho, Brunner & Habermann (2024) em *Pinus sylvestris*, onde espécies tolerantes ao Al também apresentaram indução de prolina sob estresse, reforçando que o acúmulo desse osmoprotetor constitui uma resposta comum em plantas expostas ao metal.

Em contraste com o acúmulo radicular de prolina e a retenção parcial de Al observada no teor radicular (Figura 13C e 15), constatamos que a translocação para as folhas e o acúmulo e teor foliar de Al apresentaram redução em concentrações intermediárias e leve aumento nos maiores teores de Al no solo (figura 13A, B e C). Esse padrão sugere que, em concentrações intermediárias, as plantas possivelmente restringiram a movimentação do Al para a parte aérea por retenção radicular, imobilização na parede celular, complexação com ácidos orgânicos ou limitação do transporte via xilema (Sade et al., 2016; Bojórquez-Quintal et al., 2017). Embora o acúmulo radicular não tenha sido estatisticamente significativo (dados não apresentados), os valores indicam maior retenção nas raízes em relação à parte aérea, o que ganha relevância biológica quando associado à baixa translocação foliar e ao aumento de prolina (Figura 13A e 15). Esse padrão é corroborado por Horst et al. (2010), Doncheva et al. (2005) e Frantzios et al. (2005), que destacam os mecanismos de retenção radicular como cruciais para limitar a translocação do Al e proteger tecidos da parte aérea.

Na maior concentração de Al, o aumento da translocação foliar pode indicar saturação dos mecanismos de retenção, permitindo que parte do Al ultrapassasse as barreiras de exclusão, como já descrito em revisões sobre tolerância diferencial ao Al em espécies agrícolas (Sade et al., 2016; Bojórquez-Quintal et al., 2017).

4.3 Alterações no teor e acúmulo de nutrientes sob toxidez por alumínio

A exposição ao Al promoveu variações direcionadas no estado nutricional das plantas, com respostas dependentes do nutriente e do órgão avaliado. De modo geral, nossos resultados evidenciam que a redução do crescimento está associada, em parte, à desorganização da homeostase mineral. O efeito foi mais evidente para P, Ca, Mg, Cu, Fe e Mn, que apresentaram quedas no teor e/ou no acúmulo em folhas e raízes. Em contraste, N, Zn e B aumentaram em concentrações intermediárias de Al. Embora Ca nas raízes e Mn nas folhas também tenham aumentado, esses incrementos sugerem efeito de concentração, absorção compensatória ou redistribuição interna sob estresse (Fageria, 2001; Marschner, 2012). Desequilíbrios nutricionais induzidos pelo alumínio já foram relatados em diversas espécies (Mariano et al., 2015; Freitas et al., 2017; Guo et al., 2018; Chen et al., 2019b), e nossos resultados estão em consonância com a literatura (Roshani et al., 2014; Moustaka et al., 2016; Sade et al., 2016; Dos Reis et al., 2018;), que aponta P, Ca e Mg como os nutrientes mais prejudicados pela presença do metal. Em contraste,

o K manteve-se estável tanto em folhas quanto em raízes, sem alterações significativas no teor ou no acúmulo (Figura suplementar).

Destacamos o P como o nutriente mais sensível ao Al, com redução expressiva no acúmulo radicular e foliar (Figura 1B e 3A). Essa resposta decorre da elevada afinidade química entre Al^{3+} e fosfato, amplamente documentada (Kochian et al., 2004; Yang et al., 2011). Em solos ácidos, o Al^{3+} precipita o P disponível na forma de AlPO_4 , reduzindo drasticamente a concentração de Pi na rizosfera (Hinsinger, 2001). Além disso, a redução proporcionalmente maior no transporte de P para a parte aérea sugere uma restrição fisiológica adicional: estudos isotópicos demonstram que o Al absorvido complexa o P no apoplasto radicular e nos tecidos vasculares, formando compostos de baixa mobilidade que retêm o nutriente nas raízes (Clarkson, 1966). O Al também compromete a morfologia radicular, inibindo elongação e divisão celular (Delhaize & Ryan, 1995). Um sistema radicular menos ramificado e com menor densidade de pelos reduz a superfície de contato com o solo, agravando ainda mais a aquisição de P, um nutriente de baixa mobilidade (Ofoe et al., 2023). Esses mecanismos precipitação externa, imobilização interna e danos morfológicos convergem para uma síndrome de deficiência funcional de P. Dado o papel central do fósforo na transferência de energia (ATP), divisão celular e formação de novos tecidos (Vance et al., 2003), sua restrição fisiológica é provavelmente um dos principais fatores da redução de crescimento observada sob toxidez por Al.

Além do P, os cátions Ca, Mg, Cu, Fe e Mn também foram fortemente afetados, com reduções significativas no acúmulo radicular e foliar. Esse padrão pode ser explicado por dois mecanismos complementares: (i) competição direta entre Al^{3+} e cátions divalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+}) por sítios de troca na parede celular e membrana plasmática, devido à maior carga e menor raio iônico do Al^{3+} (Bose et al., 2011; Marschner, 2012); e (ii) alteração da integridade e funcionalidade da membrana plasmática, que reduz o potencial de membrana, compromete a atividade da H^+ -ATPase e limita o fluxo de íons essenciais (Guo et al., 2007; Gupta et al., 2013; Ofoe et al., 2023). A queda no Ca afeta a estabilidade de membranas e a sinalização celular; a redução de Mg compromete a fotossíntese, dada sua função estrutural na clorofila e como cofator da Rubisco (Bose et al., 2011; Marschner, 2012); já as reduções de Cu, Fe e Mn prejudicam processos redox vitais, como a fotossíntese (Fe e Mn), a respiração mitocondrial (Cu e Fe) e a atividade de enzimas antioxidantes (Cu/Zn-SOD; Mn-SOD), amplificando o estresse oxidativo induzido pelo Al (Lidon & Barreiro, 1999; Lilay et al., 2024).

Por outro lado, os teores foliares de N, Zn e B apresentaram aumento em concentrações intermediárias de Al, declinando nas doses mais elevadas. Esse padrão não reflete necessariamente melhoria nutricional, mas sim efeito de concentração: sob estresse severo, a biomassa reduz em maior proporção que a absorção do nutriente, resultando em incremento aparente na concentração tecidual (Jarrell & Beverly, 1981).

4.4 Eficiência de absorção (EA), utilização (EU) e translocação de nutrientes (ET) sob toxidez por Al^{3+}

A análise integrada das EA, EU e ET sugere que o Al^{3+} pode afetar seletivamente a economia nutricional da planta, possivelmente por mecanismos que vão da competição iônica direta a efeitos indiretos associados à redução da biomassa (Kochian et al., 2015). Espécies nativas de solos ácidos podem apresentar tolerância parcial ao Al, mantendo crescimento mesmo sob concentrações elevadas, conforme discutido por Haridasan (2008) para o Cerrado brasileiro, e Moreira et al. (2012) demonstraram que espécies amazônicas diferem significativamente quanto à EA de nutrientes em solos ácidos, indicando adaptações variáveis. Nesse contexto, *Paullinia cupana* insere-se como espécie com possíveis adaptações a condições edáficas naturalmente ácidas (Fageria & Baligar, 2008) com expectativa de certo grau de ajuste fisiológico.

Destacamos neste estudo o Ca como o nutriente cujas eficiências nutricionais foram mais afetadas pela toxicidade de Al. Houve redução expressiva da EA e da ET (Figura 8B e 12A), refletindo sua baixa mobilidade no floema e forte dependência do fluxo xilemático para distribuição aos tecidos em crescimento (Thor, 2019). A EU apresentou resposta bifásica, com maior eficiência em concentrações intermediárias e queda nos extremos. Diferentemente de nutrientes como N, P, K e Mg, que são remobilizados via floema, o Ca é transportado preferencialmente pelo xilema, sendo sua alocação determinada pela transpiração e pela integridade vascular (Bang et al., 2020). A competição direta entre Al^{3+} e Ca^{2+} por sítios de ligação na parede celular, associada à redução da atividade das H^+ -ATPases radiculares, compromete tanto a absorção quanto o carregamento de Ca no xilema, resultando em translocação limitada para a parte aérea (Marschner, 2012; Kochian et al., 2015). O P apresentou um comportamento distinto frente ao Al: enquanto a EA e a ET não foram significativamente influenciadas, a EU aumentou sob concentrações mais elevadas (figura 10C). Esse aparente paradoxo reflete a capacidade da planta de sustentar produção de biomassa mesmo com menor conteúdo

interno de P, um ajuste fisiológico particularmente relevante em ambientes amazônicos com baixa disponibilidade natural desse nutriente (Reichert et al., 2022). Espécies adaptadas ou que crescem em solos ácidos desenvolveram estratégias para lidar com a baixa disponibilidade de P, como a redução da exigência interna, a otimização da alocação e o aumento do tempo de residência do nutriente nos tecidos (Sánchez-Calderón et al., 2010; Reichert et al., 2022). Contudo, como já discutido por Hinsinger (2001) e Kochian et al. (2015), a elevada afinidade do Al por fosfatos limita a disponibilidade externa e interna, de modo que essa eficiência aparente não se traduz em tolerância plena. Para N, K e B, observamos aumento da EA sob Al, possivelmente como resposta compensatória ao dano radicular (Marschner, 2012; Fageria, 2001). Contudo, a EU diminuiu significativamente, indicando perda da capacidade de converter nutrientes absorvidos em biomassa, padrão também descrito em cana-de-açúcar (Borges et al., 2020). No caso de Mn e Zn, a EA apresentou resposta quadrática, com incremento em doses intermediárias e queda nas maiores concentrações, enquanto a EU também se reduziu, o que pode estar associado a limites fisiológicos de compensação sob toxidez por Al (Kochian et al., 2015). A ET desses micronutrientes não foi consistentemente influenciada, reforçando que o ajuste ocorreu principalmente na absorção. Esse padrão de resposta bifásica para Mn e Zn sob estresse por Al já foi documentado em milho, onde a translocação desses nutrientes para a parte aérea diminuiu acima de uma concentração crítica de Al, indicando que o comprometimento do transporte ocorre independentemente da integridade da membrana plasmática (Lidon et al., 2000).

Outro padrão envolveu S, Fe e Cu, com respostas predominantes na ET. Para o S, a ET aumentou em concentrações intermediárias de Al, demandando possivelmente por compostos sulfurados ligados à defesa antioxidante e detoxificação (Das et al., 2025), mas caiu em concentrações mais altas, indicando limite fisiológico. O Fe apresentou redução inicial da ET, possivelmente por retenção radicular ou limitação do transporte para a parte aérea (Yokosho et al., 2009). Por outro lado, o Cu mostrou aumento linear da ET, mesmo com menor acúmulo radicular, possivelmente refletindo alteração no particionamento interno mais do que ganho nutricional efetivo (Marschner, 2012). Esse padrão é consistente com observações em *Citrus sinensis* (L.), onde a adição de Al aumentou a translocação de Cu das raízes para a parte aérea em relação ao tratamento com Cu isolado, contribuindo para uma toxicidade mais severa da combinação Cu+Al em comparação com cada metal isoladamente (Chen et al., 2025).

As eficiências de Mg não foram significativamente modificadas pelo Al, embora seus teores e acúmulos tenham sido afetados. Em conjunto, os padrões observados apontam três respostas fisiológicas principais: (i) limitação funcional do Ca, com queda de EA e ET (figuras 18B e 12A); (ii) aumento da EU aparente de P sob restrição fosfatada (figura 10C); e (iii) compensação parcial de N, K, B, Mn e Zn (figuras 8A e C; 9A, B e C). Esses ajustes revelam mecanismos de adaptação parcial ao Al, mas insuficientes para manter a homeostase mineral e evitar o desequilíbrio nutricional.

4.5 Alterações anatômicas em raízes e folhas

As alterações morfoanatômicas induzidas por metais como Al nas plantas indicam reorganização vascular associada ao estresse, com efeitos integrados entre raízes e folhas (Yadav et al., 2021). Nas raízes, a presença de Al promoveu espessamento do xilema, sobretudo em concentrações intermediárias, acompanhado de redução da espessura do floema (figura 18). O aumento dos elementos xilemáticos pode refletir uma resposta estrutural voltada à manutenção parcial do transporte de água e solutos em raízes comprometidas, uma vez que alterações na diferenciação e na espessura do xilema influenciam a condução hidráulica e o transporte de nutrientes minerais para a parte aérea (Myburg & Sederoff, 2001; Gavassi et al., 2020). Resposta semelhante foi observada em *Crotalaria juncea*, espécie mais resistente ao Al, na qual o aumento da espessura do xilema primário foi associado à aclimatação em solos ácidos (dos Santos et al., 2025).

Por outro lado, a redução do floema sugere limitação no transporte de fotoassimilados para tecidos-dreno, uma vez que esse tecido sustenta o suprimento de carbono necessário à respiração, ao crescimento e à emissão de raízes finas (De Schepper et al., 2013). Esse desequilíbrio vascular radicular ajuda a explicar a redução da biomassa, do volume e da densidade de raízes finas, pois a anatomia radicular regula a aquisição de recursos do solo e o transporte radial e axial de água e nutrientes na planta (Lynch et al., 2021). Nesse contexto, a forte redução da espessura da nervura central (figura 20A) a alteração foliar mais consistente neste estudo sugere que o dano radicular restringiu o desenvolvimento vascular foliar, em concordância com a redução da área foliar e do crescimento. Como xilema e floema formam os principais tecidos de transporte de água, minerais e fotoassimilados, alterações na nervura central podem indicar limitação estrutural no suprimento e na distribuição desses compostos na lâmina foliar (Miyashima et al., 2013; Agustí et al., 2024). Os tecidos do mesófilo apresentaram respostas menos

consistentes. O parênquima paliçádico não mostrou espessamento uniforme sob Al, enquanto o parênquima esponjoso apresentou tendência de aumento em alguns tratamentos. Assim, a principal resposta anatômica observada parece estar associada ao sistema vascular, e não a uma alteração uniforme do mesófilo. Embora as mensurações anatômicas tenham sido interpretadas de forma descritiva e percentual, os padrões observados reforçam os resultados de crescimento, nutrição mineral e eficiência nutricional, especialmente a redução da biomassa radicular, do volume de raízes e do acúmulo de nutrientes.

4.6 Integração das respostas multivariadas, limitações e perspectivas

As análises multivariadas confirmaram que a toxidez por Al em *Paullinia cupana* cv. BRS Noçoquém resulta de uma resposta integrada entre crescimento, nutrição mineral e estresse bioquímico. A PCA (figura 21) evidenciou a separação entre plantas sob menor e maior estresse, destacando variáveis como massa seca total, área foliar, volume radicular, P e Mg foliar e a ET de Ca como associadas ao bom desempenho. Em contraste, Al radicular, translocação de Al, prolina radicular e a EU de P se relacionaram às maiores concentrações, reforçando que, sob estresse intenso, a planta recorre a retenção radicular do metal, ativação de mecanismos bioquímicos e ajustes fisiológicos na economia do P. A CDA (figura 22) corroborou esse padrão, apontando massa seca total, Al radicular, EU de P e ET de Ca como variáveis-chave para discriminar os tratamentos.

É importante reconhecer que em nosso estudo a ausência de análises de localização do Al nos tecidos e da quantificação de ácidos orgânicos, como citrato, malato e oxalato, limita a compreensão detalhada dos mecanismos de exclusão ou complexação do metal. Além disso, o cultivo em vasos pode restringir o crescimento radicular e não reproduzir integralmente as condições de campo. Apesar dessas restrições, os descritores identificados massa seca total, Al radicular, eficiência de uso de P e eficiência de translocação de Ca mostraram-se sensíveis à toxidez, oferecendo não apenas evidências consistentes da resposta fisiológica, mas também um conjunto de marcadores inéditos. Por se tratar do primeiro estudo dessa natureza na cv. BRS Noçoquém, e possivelmente em *Paullinia cupana*, os resultados trazem novidade científica e ampliam as perspectivas para investigações futuras sobre tolerância ao Al em diferentes materiais genéticos da espécie.

5. CONCLUSÕES

O Al comprometeu significativamente o crescimento das plantas, com maior impacto sobre raízes e biomassa total. Para as variáveis de crescimento, no geral a faixa crítica foi estimada a partir de $0,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Al no solo, indicando sensibilidade da cultivar. A raiz foi o principal sítio de acúmulo do metal e de resposta ao estresse, evidenciada pela retenção preferencial de Al e pelo aumento da prolina radicular.

No componente nutricional, P e Ca foram os nutrientes mais associados à toxidez por Al. O Ca foi prejudicado na absorção e translocação, enquanto o P apresentou redução no teor e no acúmulo, mas maior eficiência de uso sob concentrações elevadas de Al. A faixa crítica para redução do acúmulo de nutrientes nas folhas variou de 0,19 a $1,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, afetando sobretudo nutrientes catiônicos e P. Nas raízes, a faixa crítica foi de 0,29 a $0,89 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, com maior impacto sobre S, P, Cu, Mn e Mg.

As alterações anatômicas indicaram remodelação vascular, com espessamento do xilema, redução do floema radicular e diminuição da nervura central foliar. Dessa forma, massa seca de raízes, massa seca total, área foliar, acúmulo de nutrientes, Al radicular, prolina radicular, eficiência de uso de P e translocação de Ca destacam-se como os principais descritores da toxidez por Al em *Paullinia cupana* cv. BRS Noçoquém.

6. REFERÊNCIAS

- AGUSTÍ, J.; BLÁZQUEZ, M. A. Plant vascular development: mechanisms and environmental regulation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 77, p. 3711-3728, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03496-5>.
- ALLEN, S. E.; TERMAN, G. L.; CLEMENTS, L. B. **Greenhouse techniques for soil-plant-fertilizer research**. Muscle Shoals: National Fertilizer Development Center, 1976. 55 p.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ATROCH, A. L.; NASCIMENTO FILHO, F. J. do; PEREIRA, J. C. R. **BRS Noçoquém: primeira cultivar de guaranazeiro de reprodução via sementes para cultivo no estado do Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2015.
- BALIGAR, V. C.; ANGHINONI, I.; PITTA, G. V. E.; SANTOS, H. L. dos; CUNHA FILHO, E.; SCHAFFERT, R. E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, n. 11, p. 2325-2338, 1995. <https://doi.org/10.1080/01904169509365068>.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BATISTA, I. M. P. **Recomendação de calagem para alguns solos do Estado do Amazonas**. 2014. 37 f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

BATISTA, M. F.; MOSCHETA, I. S.; BONATO, C. M.; BATISTA, M. A.; ALMEIDA, O. J. G.; INOUE, T. T. Aluminum in corn plants: influence on growth and morpho-anatomy of root and leaf. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 1, p. 177-187, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000100018>.

BORGES, C. E.; CAZETTA, J. O.; SOUSA, F. B. F.; OLIVEIRA, K. S. Aluminum toxicity reduces the nutritional efficiency of macronutrients and micronutrients in sugarcane seedlings. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, e015120, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044015120>.

BOSE, J.; BABOURINA, O.; RENGEL, Z. Papel do magnésio na atenuação da toxicidade do alumínio em plantas. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 7, p. 2251–2264, 2011. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq456>.

BREMNER, J. M. Nitrogen-total. In: SPARKS, D. L. (ed.). **Methods of soil analysis: part 3: chemical methods**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. p. 1085-1121. (SSSA Book Series, n. 5).

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. 2. ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2015.

BUGBEE, B. G. Growth, analysis and yield components. In: SALISBURY, F. B. (ed.). **Units, symbols, and terminology for plant physiology**. New York: Oxford University Press, 1996. p. 115-119.

CARRIGAN, L.; FREY, K. J. Volumes de raízes de espécies de Avena. **Crop Science**, v. 20, n. 3, p. 407-408, 1980.

CARVALHO, B. M. de O.; BRUNNER, I.; HABERMANN, G. Does aluminum induce high proline concentration in *Pinus sylvestris*, an Al-tolerant species? **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 36, n. 1, p. 21-31, 2024. <https://doi.org/10.1007/s40626-023-00302-3>.

CHEN, Q. Q.; WU, W. W.; ZHAO, T. T.; TAN, W. Q.; TIAN, J.; LIANG, C. Y. Complex gene regulation underlying mineral nutrient homeostasis in soybean root response to acidity stress. **Genes**, v. 10, p. 21, 2019. <https://doi.org/10.3390/genes10050402>.

CHEN, W. S.; WU, T.; XIA, T. T.; TONG, L. Y.; LU, F.; YE, X.; ... CHEN, L. S. Why is the combined treatment of copper and aluminum more toxic to citrus than single factor treatment? **Journal of Hazardous Materials**, 139437, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.139437>.

CLARKSON, D. T. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings. **Plant Physiology**, v. 41, p. 165–172, 1966. <https://doi.org/10.1104/pp.41.1.165>.

DALONSO, N.; PETKOWICZ, C. L. O. Guarana powder polysaccharides: characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1804–1812, 2012.

DAS, A. et al. Mitigation of aluminum toxicity in rice seedlings using biofabricated selenium nanoparticles and nitric oxide: synergistic effects on oxidative stress tolerance and sulfur metabolism. **Chemosphere**, v. 370, p. 143940, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.143940>.

DAVANSO, V. M.; SOUZA, L. A.; MEDRI, M. E.; PIMENTA, J. A.; BIANCHINI, E. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 3, p. 375–384, 2002.

DE SCHEPPER, V.; et al. Phloem transport: a review of mechanisms and controls. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 16, p. 4839–4850, 2013. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert302>.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, v. 107, n. 2, p. 315–321, 1995. <https://doi.org/10.1104/pp.107.2.315>.

DONCHEVA, S.; AMENÓS, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1213–1220, 2005. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri115>.

DOS SANTOS, B. S.; FERREIRA, T. C.; ROSALEM, P. F.; OLIVIO, M. L. G.; BOSSARDI, V. P.; MARTINS, A. R.; ... DE CAMARGOS, L. S. Aluminum stress in *Crotalaria* spp.: anatomic changes, antioxidative response and nutrition. **Plant Stress**, v., p. 100967, 2025.

DUNN, L. E. Lime requirement determination of soils by means of titration curves. **Soil Science**, v. 56, n. 5, p. 341–351, 1943.

EEKHOUT, T.; LARSEN, P.; DE VEYLDER, L. Modification of DNA checkpoints to confer aluminum tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 22, p. 102–105, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.003>.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa, 1999. 370 p.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. Aluminum toxicity in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 11, n. 3, p. 303–319, 1988. <https://doi.org/10.1080/01904168809363804>.

FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 8, p. 1269–1290, 2001.

FOY, C. D. **Effects of aluminum on plant growth**. In: CARSON, E. W. (ed.). *The Plant Root and Its Environment*. Charlottesville: University of Virginia, 1974. p. 601–642.

FOY, C. D. Plant adaptation to acid, aluminum-toxic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 19, n. 7-12, p. 959-987, 1988. <https://doi.org/10.1080/00103628809367988>.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511–566, 1978. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.29.060178.002455>.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, 1978. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.29.060178.002455>.

FRANTZIOS, G.; GALATIS, B.; APOSTOLAKOS, P. Aluminium causes variable responses in actin filament cytoskeleton of the root tip cells of *Triticum turgidum*. **Protoplasma**, v. 225, p. 129–140, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00709-005-0100-z>.

FREITAS, L. B.; FERNANDES, D. M.; MAIA, S. C. M.; MAZZIERO, B. G. Alumínio na nutrição mineral de plantas de arroz de terras altas. Agrária – **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p. 26–34, 2017.

GAVASSI, M. A.; DODD, I. C.; PUÉRTOLAS, J.; SILVA, G. S.; CARVALHO, R. F.; HABERMANN, G. Aluminum-induced stomatal closure is related to low root hydraulic conductance and high ABA accumulation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 179, artigo 104233, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104233>.

GENG, X.; HORST, W. J.; GOLZ, J. F.; LEE, J. E.; DING, Z.; YANG, Z. B. LEUNIG HOMOLOG transcriptional co-repressor mediates aluminium sensitivity through PECTIN METHYLESTERASE 46-modulated root cell wall pectin methylesterification in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 90, p. 491–504, 2017. <https://doi.org/10.1111/tpj.13506>.

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

GUO, P.; QI, Y. P.; CAI, Y. T.; YANG, T. Y.; YANG, L. T.; HUANG, Z. R. et al. Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two citrus species differing in aluminum tolerance. **Tree Physiology**, v. 38, p. 1548–1565, 2018. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy035>.

GUO, T. R.; ZHANG, G. P.; ZHANG, M. X.; WANG, F. B.; JIN, U.; CAI, J. X. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere**, v. 17, p. 505–512, 2007. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(07\)60060-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(07)60060-5).

GUPTA, N.; GAURAV, S. S.; KUMAR, A. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: a review. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 21–37, 2013. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412A3004>.

HARIDASAN, M. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 3, p. 183–195, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000300003>.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. **Plant and Soil**, v. 237, p. 173–195, 2001.

HORST, W. J.; WANG, Y.; ETICHA, D. O papel do apoplasto radicular na inibição do alongamento radicular induzida pelo alumínio e na resistência das plantas ao alumínio: uma revisão. **Annals of Botany**, v. 106, p. 185–197, 2010.

JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 1940.

JORNS, A. C.; HECHT-BUCHHOLZ, C.; WISSEMEIER, A. H. Aluminium-induced callose formation in root tips of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 154, n. 5, p. 349–353, 1991.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609–619, 2015.

KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, p. 237–260, 1995. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.46.060195.001321>.

KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PINEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminium tolerance and phosphorus efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 459–493, 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141655>.

KOCHIAN, L. V.; PIÑEROS, M. A.; LIU, J.; MAGALHAES, J. V. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 571–598, 2015. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>.

KOPITTKKE, P. M.; MENZIES, N. W.; WANG, P.; BLAMEY, F. P. C. Kinetic and nature of aluminium rhizotoxic effects: a review. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 4451–4467, 2016. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw233>.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OLKIN, I. (ed.). **Contributions to probability and statistics**. Palo Alto: Stanford University Press, 1960. p. 278–292.

LI, B.; McKEAND, S. E.; ALLEN, H. L. Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings. **Forest Science**, v. 37, p. 613–626, 1991.

LIDON, F. C.; AZINHEIRA, H. G.; BARREIRO, M. G. Aluminum toxicity in maize: Biomass production and nutrient uptake and translocation. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 2, p. 151-160, 2000. <https://doi.org/10.1080/01904160009382005>.

LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G. Effects of aluminum toxicity on nutrient accumulation in maize shoots: Implications on photosynthesis. **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 397-415, 1999.

LILAY, G. H.; THIÉBAUT, N.; DU MEE, D.; ASSUNÇÃO, A. G.; SCHJOERRING, J. K.; HUSTED, S.; PERSSON, D. P. Linking the key physiological functions of essential micronutrients to their deficiency symptoms in plants. **New Phytologist**, v. 242, n. 3, p. 881-902, 2024.

LYNCH, J. P.; STROCK, C. F.; SCHNEIDER, H. M.; SIDHU, J. S.; AJMERA, I.; GALINDO-CASTAÑEDA, T.; KLEIN, S. P.; HANLON, M. T. Root anatomy and soil resource capture. **Plant and Soil**, v. 466, p. 21-63, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05010-y>.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MANTOVANINI, L. J.; SILVA, R. G. da; LEITE SILVA, J. de O.; SANTOS, T. M. R. dos; SANTOS, D. M. M. dos; ZINGARETTI, S. M. Root system development and proline accumulation in sugarcane leaves under aluminum (Al^{3+}) stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 2, p. 208-213, 2019.

MARIANO, E. D.; PINHEIRO, A. S.; GARCIA, E. E.; KELTJENS, W. G.; JORGE, R. A.; MENOSSI, M. Differential aluminium-impaired nutrient uptake along the root axis of two maize genotypes contrasting in resistance to aluminium. **Plant and Soil**, v. 388, p. 323-335, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2334-z>.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MIYASHIMA, S.; SEBAG, A.; SEVILEM, I.; HELARIUTTA, Y. Stem cell function during plant vascular development. **The EMBO Journal**, v. 32, n. 2, p. 178-193, 2013. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.301>.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; FAGERIA, N. K. Nutritional limitations in multi-strata agroforestry system with native Amazonian plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 35, n. 12, p. 1787-1800, 2012. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.697968>.

MOUSTAKA, J.; OUZOUNIDOU, G.; BAYCU, G.; MOUSTAKAS, M. Aluminum resistance in wheat involves maintenance of leaf Ca^{2+} and Mg^{2+} content, decreased lipid peroxidation and Al accumulation, and low photosystem II excitation pressure. **Biometals**, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9938-0>.

MYBURG, A. A.; SEDEROFF, R. R. Xylem structure and function. In: **eLS**. Chichester: John Wiley & Sons, 2001. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0002083>.

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

PANDA, S. K.; MATSUMOTO, H. Molecular physiology of aluminum toxicity and tolerance in plants. **The Botanical Review**, v. 73, n. 4, p. 326-347, 2007.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

REIS, A. R. dos; LISBOA, L. A. M.; REIS, H. P. G.; BARCELOS, J. P. Q.; SANTOS, E. F. et al. Depicting the physiological and ultrastructural responses of soybean plants to Al stress conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 377-390, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.07.028>.

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

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

RYAN, P. R.; SHROFF, J. M.; KOCHIAN, L. V. Aluminum toxicity in roots: correlation among ionic currents, ion fluxes, and root elongation in aluminum-sensitive and aluminum-tolerant wheat cultivars. **Journal of Experimental Botany**, v. 43, n. 9, p. 1287-1294, 1992. <https://doi.org/10.1093/jxb/43.9.1287>.

SÁNCHEZ-CALDERÓN, L.; CHACON-LÓPEZ, A.; PÉREZ-TORRES, C.-A.; HERRERA-ESTRELLA, L. Phosphorus: plant strategies to cope with its scarcity. In: HELL, R.; MENDEL, R.-R. (eds.). **Cell biology of metals and nutrients**. Berlin/Heidelberg: Springer, 2010. p. 173-198.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análise química de plantas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1974. 56 p.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality: complete samples. **Biometrika**, v. 52, n. 3-4, p. 591-611, 1965.

SHARMA, A.; SHAHZAD, B.; KUMAR, V.; KOHLI, S. K.; SIDHU, G. P. S.; BALI, A. S.; ... ZHENG, B. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. **Biomolecules**, v. 9, n. 7, p. 285, 2019.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, p. 289-302, 1981.

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 21, p. 1–21, 2020.

SINGH, S.; TRIPATHI, D. K.; SINGH, S.; SHARMA, S.; DUBEY, N. K.; CHAUHAN, D. K.; VACULÍK, M. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 177-193, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.005>.

SOUZA, L. A.; ROSA, S. M.; MOSCHETA, I. S.; MOURÃO, K. S. M.; RODELLA, R. A.; ROCHA, D. C.; LOLIS, M. I. G. A. **Morfologia e anatomia vegetal: técnicas e práticas**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2005. 194 p.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, p. 1687-1699, 1994.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, v. 157, n. 3, p. 423-447, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>.

WATANABE, T.; OSAKI, M. Mechanisms of adaptation to high aluminum condition in native plant species growing in acid soils: a review. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 33, n. 7-8, p. 1247-1260, 2002.

WU, Q.; TAO, Y.; HUANG, J.; LIU, Y. S.; YANG, X. Z.; JING, H. K. et al. The MYB transcription factor MYB103 acts upstream of TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE27 in regulating aluminum sensitivity by modulating the O-acetylation level of cell wall xyloglucan in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, v. 111, p. 529-545, 2022. <https://doi.org/10.1111/tpj.15837>.

YADAV, V.; ARIF, N.; KOVÁČ, J.; SINGH, V. P.; TRIPATHI, D. K. et al. Structural modifications of plant organs and tissues by metals and metalloids in the environment: a review. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 159, p. 100-112, 2021.

YANG, L. T.; JIANG, H. X.; TANG, N.; CHEN, L. S. Mechanisms of aluminum-tolerance in two species of citrus: secretion of organic acid anions and immobilization of aluminum by phosphorus in roots. **Plant Science**, v. 180, n. 3, p. 521-530, 2011.

YOKOSHO, K.; YAMAJI, N.; UENO, D.; MITANI, N.; MA, J. F. OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. **Plant Physiology**, v. 149, n. 1, p. 297-305, 2009.

ZHANG, H.; JIANG, Z.; QIN, R.; ZHANG, H.; ZOU, J.; JIANG, W. et al. Accumulation and cellular toxicity of aluminum in seedlings of *Pinus massoniana*. **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 264, 2014. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0264-9>.

ZULFIQAR, F.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: new insights into a classical phenomenon. **Plant**, v. 251, n. 1, p. 3, 2020a.

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 4629-4651, 2023.

ZULFIQAR, F.; CHEN, J.; FINNEGAN, P. M.; YOUNIS, A.; NAFEES, M.; ZORRIG, W.; HAMED, K. B. Application of trehalose and salicylic acid mitigates drought stress in sweet basil and improves plant growth. **Plants**, v. 10, n. 6, artigo 1078, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10061078>.

**Respostas morfofisiológicas e bioquímicas à toxidez do manganês
em cultivares de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**

CAPÍTULO 2

Respostas morfofisiológicas e bioquímicas à toxidez do manganês em genótipos de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)

Resumo

O manganês (Mn) é essencial ao crescimento vegetal, mas pode tornar-se fitotóxico em altas concentrações no solo. No guaranazeiro, ainda são pouco conhecidas as diferenças genótípicas na resposta à disponibilidade de Mn. Assim, avaliamos os efeitos de concentrações crescentes de Mn no solo (0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 mg dm⁻³) sobre o crescimento, o status nutricional, o desempenho fotoquímico e as respostas bioquímicas dos genótipos BRS-Amazonas (CMU-300) e BRS-Maués (CMU-871). O aumento da disponibilidade de Mn reduziu o acúmulo de nutrientes, a área foliar e a biomassa dos dois genótipos, sobretudo nas maiores concentrações testadas. As respostas foram genótipo-dependentes: a CMU-871 manteve maiores valores de F_v/F_m , PI_{abs} e PI_{total} em ampla faixa de Mn, com redução de PI_{abs} e PI_{total} apenas na maior concentração testada. Esse genótipo também apresentou maior eficiência de uso do nutriente, maior acúmulo de N, P e K, menor acúmulo foliar de Mn e maiores teores de prolina, em especial nas raízes, enquanto a CMU-300 concentrou mais Mn nas folhas e apresentou menor desempenho fisiológico. Em conjunto, os resultados evidenciaram que a maior capacidade de aclimação da CMU-871 ao excesso de Mn resulta da integração entre estabilidade fotoquímica, melhor aproveitamento nutricional, ajuste bioquímico via prolina e maior preservação da biomassa.

Palavras-chave: Guaraná; toxidez por Mn; fotossistema II; prolina e eficiência de uso do Mn.

CHAPTER 2

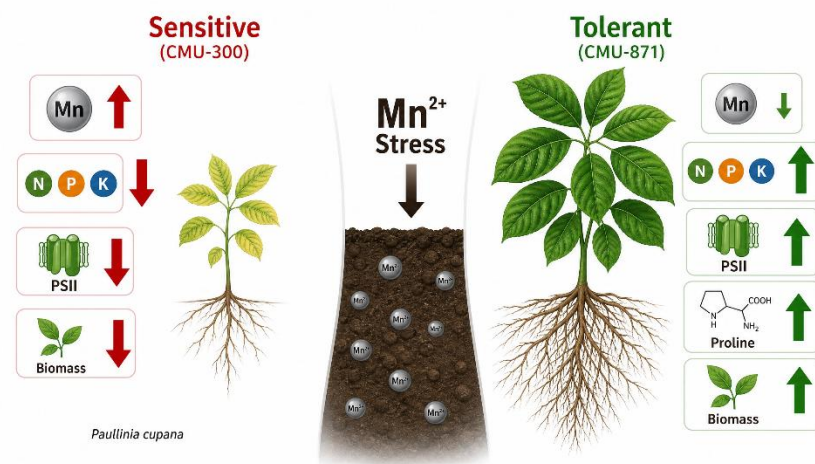
Morphophysiological and biochemical responses to manganese toxicity in guarana cultivars (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)

Abstract

Manganese (Mn) is essential for plant growth, but it can become phytotoxic at high soil concentrations. In guarana, genotypic differences in response to Mn availability remain poorly understood. Thus, we evaluated the effects of increasing Mn concentrations in the soil (0.0; 2.5; 5.0; 10.0; 20.0, and 40.0 mg dm⁻³) on growth, nutritional status, photochemical performance, and biochemical responses of the genotypes BRS-Amazonas (CMU-300) and BRS-Maués (CMU-871). Increased Mn availability reduced nutrient accumulation, leaf area, and biomass of both genotypes, particularly at the highest concentrations tested. Responses were genotype-dependent: CMU-871 maintained higher F_v/F_m , PI_{abs} , and PI_{total} values across a wide range of Mn concentrations, with reductions in PI_{abs} and PI_{total} occurring only at the highest concentration tested. This genotype also showed greater nutrient use efficiency, higher N, P, and K accumulation, lower leaf Mn accumulation, and higher proline contents, especially in roots, whereas CMU-300 accumulated more Mn in the leaves and showed lower physiological performance. Overall, the results indicated that the greater acclimation capacity of CMU-871 to excess Mn results from the integration of photochemical stability, better nutrient use, biochemical adjustment via proline, and greater biomass preservation.

Keywords: Guarana; Mn toxicity; Photosystem II; proline; Mn use efficiency.

Graphical abstract



1. INTRODUÇÃO

O manganês (Mn) é um elemento essencial ao metabolismo vegetal, participando de processos como fotossíntese, respiração, homeostase redox e síntese de proteínas e carboidratos (Buchanan et al., 2000; Millaleo et al., 2010; Wu et al., 2022). Sua função mais crítica ocorre no fotossistema II, onde integra o cluster Mn_4CaO_5 do complexo de evolução do oxigênio, localizado no lúmen do tilacoide (Govindjee et al., 2010). Nesse sítio, o Mn catalisa a fotólise da água e sustenta o transporte fotossintético de elétrons (Shen, 2015; Schmidt et al., 2016). Consequentemente, sua deficiência compromete a integridade dos cloroplastos, reduz a eficiência fotoquímica e limita o crescimento vegetal (Broadley et al., 2012; Schmidt et al., 2016).

Em solos ácidos ou encharcados, a biodisponibilidade de Mn aumenta à medida que o pH do solo diminui, especialmente abaixo de 5,5 (Foy, 1984; Skórka et al., 2023). Nessas condições, o íon Mn^{2+} torna-se altamente disponível para a absorção radicular. Quando acumulado acima dos limites fisiológicos, o Mn atinge concentrações fitotóxicas, constituindo um dos principais fatores limitantes ao crescimento e à produção agrícola (El-Jaoual & Cox, 1998; Millaleo et al., 2010).

Estudos anteriores demonstraram que o estresse por Mn pode comprometer a absorção de nutrientes, como ferro (Fe), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) (Millaleo et al., 2010; Santos et al., 2017; Wang et al., 2023). Além do desequilíbrio nutricional, a toxidez afeta diretamente o aparato fotossintético, prejudicando o PSII e o fluxo de elétrons, o que reduz drasticamente a eficiência fotoquímica (Li et al., 2010; Alejandro et al., 2020). Como consequência, as plantas frequentemente apresentam clorose e enrugamento do limbo foliar, distúrbios que culminam na redução da área foliar, do acúmulo de biomassa e do crescimento geral (Marschner, 1995; Li et al., 2010; Fernando & Lynch, 2015).

Para mitigar o estresse, as plantas ativam diferentes mecanismos, incluindo o controle da absorção e translocação do íon, a manutenção da eficiência fotoquímica e respostas bioquímicas focadas na homeostase celular e na redução do estresse oxidativo (Li et al., 2019). Entre as respostas bioquímicas, o acúmulo de prolina em folhas e raízes tem se destacado como um importante marcador de ajuste metabólico e proteção celular (Hayat et al., 2012; Guan et al., 2020; Skórka et al., 2023; Guo et al., 2025). Para mensurar a eficácia desses mecanismos de tolerância, a avaliação da eficiência de uso de nutrientes (Siddiqi & Glass, 1981) e a análise de parâmetros de fluorescência da clorofila *a* (como

F_v/F_m , PI_{abs} e PI_{total}) têm se mostrado ferramentas precisas para identificar limitações no transporte eletrônico e discriminar a tolerância diferencial entre genótipos (Doncheva et al., 2009; Strasser et al., 2010).

Embora a toxidez por Mn seja amplamente descrita em espécies agrícolas (Khan et al., 2000; Führes et al., 2009; Zambrosi et al., 2016; Santos et al., 2017), seus efeitos sobre o guaranazeiro (*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) permanecem pouco compreendidos. Preencher essa lacuna é fundamental, visto que a cultura é nativa da Amazônia brasileira, possui elevado valor socioeconômico e é cultivada predominantemente em solos de terra firme desta região, que são naturalmente ácidos (Moreira & Fageria, 2009; Schimpl et al., 2013), condição que favorece a alta disponibilidade de Mn^{2+} . Ademais, sabe-se que a resposta à toxidez por Mn é altamente dependente da espécie e do genótipo, refletindo diferenças na compartimentalização, uso fisiológico e manutenção do crescimento (Dziwornu et al., 2018).

Nesse cenário, cultivares recomendadas para os sistemas produtivos regionais, como a BRS Amazonas (CMU-300) e a BRS Maués (CMU-871), podem apresentar respostas contrastantes ao excesso de Mn. No entanto, ainda se desconhecem os mecanismos fisiológicos que explicam possíveis diferenças de sensibilidade entre elas. Diante disso, hipotetizamos que: (i) o excesso de Mn reduz o crescimento do guaranazeiro ao desestabilizar a homeostase nutricional e o funcionamento fotoquímico, especialmente a eficiência do PSII e o fluxo de elétrons, induzindo o acúmulo de prolina em folhas e raízes como resposta ao estresse; e (ii) CMU-300 e CMU-871 apresentam sensibilidade diferencial ao Mn, com maior tolerância associada à eficiência de uso do nutriente, estabilidade fotoquímica e ajuste bioquímico entre tecidos. Portanto, avaliamos como o aumento da disponibilidade de Mn afeta o crescimento, a nutrição mineral, o desempenho fotoquímico e as respostas bioquímicas dessas duas cultivares de guaranazeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi conduzido em casa de cultivo sob luz solar natural, com sombreamento de 50% e condições ambientais caracterizadas por densidade de fluxo de fótons fotossintéticos de $612,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12 h/12 h (dia/noite),

temperatura média de 35 ± 2 °C e umidade relativa em torno de 63%. O estudo foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas, em Manaus, Amazonas, Brasil (03° 06' 01,94" S; 59° 58' 34,59" W). Utilizamos mudas de duas cultivares de guaranazeiro, BRS-Amazonas (CMU-300) e BRS-Maués (CMU-871), ambas com 12 meses de idade, no estádio de dois a quatro pares de folhas, obtidas por propagação vegetativa via estacas. Essas cultivares são recomendadas pela EMBRAPA Amazônia Ocidental para cultivo em solos de terra firme (Atroch e Nascimento Filho, 2024), em razão de sua adaptação às condições edafoclimáticas regionais e do potencial produtivo em sistemas produtivos.

O solo utilizado foi um Latossolo Amarelo Distrófico (Santos et al., 2018a), coletado em área de terra firme sob vegetação nativa (floresta ombrófila aberta), localizada no Setor Sul da Universidade Federal do Amazonas (03°10'22.86"S; 59°57'52.57"W), na profundidade de 20-40 cm. O clima predominante da região é tropical úmido, classificado como *Af* segundo Alvares et al. (2013). Amostras compostas foram coletadas para caracterização química e classificação textural. As propriedades químicas do solo, antes da aplicação dos tratamentos e da adubação básica, foram: $\text{Al}^{3+} = 1,67 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca}^{2+} = 0,12 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg}^{2+} = 0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (extrator KCl 1 mol L⁻¹); pH (H₂O) = 4,1; acidez potencial ($\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$) = $10,06 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (extrator acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹, pH 7,0); matéria orgânica = $2,96 \text{ dag kg}^{-1}$ (Walkley-Black); capacidade de troca catiônica (CTC) = $10,96 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; saturação por bases (V%) = 2,3; soma de bases = $0,17 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{K}^+ = 7,86 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{P} = 2,30 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Fe}^{2+} = 160,0 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Cu}^{2+} = 0,24 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Zn}^{2+} = 0,88 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Mn}^{2+} = 3,2 \text{ mg dm}^{-3}$ (extrator Mehlich-1); $\text{S} = 22,4 \text{ mg dm}^{-3}$ (extraído com fosfato de cálcio 0,01 mol L⁻¹). A textura foi determinada pelo método do hidrômetro, com agitação por 16 h a 30 rpm, sendo a fração areia (2-0,053 mm) separada por peneiramento. O solo apresentou $47,6 \text{ dag kg}^{-1}$ de argila, $24,5 \text{ dag kg}^{-1}$ de areia e $27,7 \text{ dag kg}^{-1}$ de silte. Os métodos de análise química e granulométrica seguiram procedimentos metodológicos descritos por Teixeira et al. (2017).

2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos pela combinação fatorial de duas cultivares de guaranazeiro (BRS-Amazonas - CMU-300 e BRS-Maués - CMU-871) com seis níveis de Mn^{2+} (0,0; 2,5; 5; 10; 20 e 40 mg dm^{-3}). As plantas foram cultivadas em vasos plásticos

de polietileno, sem poros de drenagem, com capacidade volumétrica de $3,5 \text{ dm}^{-3}$, e distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os níveis de Mn^{2+} foram definidos com base em resultados experimentais de Horiguchi (1988) e Moreira et al. (2018). Para o estabelecimento das condições de controle, aplicamos $7,0 \text{ t ha}^{-1}$ de calcário, com o objetivo de elevar o pH e reduzir os níveis naturais de Mn^{2+} . Nos demais tratamentos, realizamos calagem com $4,0 \text{ t ha}^{-1}$ para manter o pH em 5,2, cujos valores foram estimados com base na curva de neutralização da acidez (Dunn, 1943), conforme metodologia descrita por Batista (2014). O corretivo utilizado foi uma mistura de $\text{CaCO}_3 + 4\text{MgCO}_3 \cdot \text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (p.a.), na relação estequiométrica Ca:Mg de 3:1. Nos tratamentos destinados à elevação dos níveis de Mn^{2+} , o solo recebeu doses pré-definidas de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em forma sólida. Após a aplicação do calcário, o solo foi incubado por 30 dias para correção da acidez. Em seguida, os tratamentos permaneceram em incubação adicional por mais 30 dias, assegurando a estabilização antes do plantio.

2.3 Adubação básica

Após a incubação dos solos para obtenção dos níveis desejados de Mn^{2+} , estes foram secos, destorroados e submetidos a uma adubação básica, fundamentada nas características químicas do solo, no potencial de resposta da espécie e nas recomendações de Allen, Terman e Clements (1976) e Malavolta (1980) para cultivo em ambiente protegido. Foram aplicados, por dm^3 de solo, 300 mg de nitrogênio (N), 191 mg de potássio (K), 450 mg de fósforo (P), 658 mg de cálcio (Ca), 132 mg de magnésio (Mg), 274 mg de enxofre (S), 173 mg de cloro (Cl), 0,8 mg de boro (B), 4 mg de zinco (Zn), 1,3 mg de cobre (Cu) e 0,15 mg de molibdênio (Mo). As fontes utilizadas foram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NH_2CONH_2 , KCl, KH_2PO_4 , H_3PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, S^0 , H_3BO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Todas as aplicações foram realizadas com reagentes p.a., e os nutrientes foram balanceados de modo que apenas os níveis de Mn^{2+} variassem entre os tratamentos.

Os corretivos e o enxofre elementar foram aplicados em pó, enquanto a adubação básica e as diferentes doses de Mn^{2+} foram fornecidas em solução. A aplicação foi realizada com pipetas volumétricas, utilizando 40 mL de solução para macronutrientes e 20 mL para micronutrientes por vaso. O solo de cada unidade experimental foi disposto em bandejas, recebeu a solução e foi homogeneizado manualmente. Em seguida, o solo tratado foi devolvido aos vasos e incubado por mais 30 dias, visando o equilíbrio das

fontes com o solo. Durante a incubação, a umidade foi mantida em 70% da capacidade de campo por meio de adição de água deionizada. As características químicas do solo após esse período encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características do solo pré-plantio após adubação básica e doses crescentes de Mn^{2+} , estabelecendo condições de crescimento para plantas jovens de guaranazeiro em casa de vegetação.

Característica do solo	Doses de manganês ($mg\ dm^{-3}$)					
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0
pH (H_2O)	4,44	3,87	3,73	3,66	3,59	3,39
P disponível ($mg\ dm^{-3}$)	53,11	78,61	88,9	78,28	90,88	98,46
K^+ Trocável ($mg\ dm^{-3}$)	167,0	160,0	168,0	164,0	164,0	183,0
Ca^{2+} Trocável ($cmol_c\ dm^{-3}$)	7,88	4,75	5,38	5,58	5,70	5,13
Mg^{2+} Trocável ($cmol_c\ dm^{-3}$)	2,43	1,25	1,25	1,84	1,61	1,46
Mn disponível ($mg\ dm^{-3}$)	0,01	2,90	5,2	13,35	24,0	34,2
Fe disponível ($mg\ dm^{-3}$)	96,0	78,0	94,0	84,0	104,0	108,0
Zn disponível ($mg\ dm^{-3}$)	2,77	2,57	2,86	2,67	3,06	3,05
Cu disponível ($mg\ dm^{-3}$)	0,16	0,12	0,13	0,15	0,37	0,09
B disponível ($mg\ dm^{-3}$)	0,19	0,14	0,16	0,14	0,19	0,21

pH (H_2O)- relação 1:2,5; P, K, Fe, Cu, Zn e Mn (extrator Mehlich-1); Ca e Mg^{2+} = 0,05 $cmol_c\ dm^{-3}$ (extrator KCl 1 mol L^{-1}) e B (extrator água quente).

2.4 Variáveis analisadas

O efeito das diferentes concentrações de Mn^{2+} foi avaliado após 250 dias de exposição das plantas, considerando a variação dos parâmetros fotossintéticos obtidos pela fluorescência da clorofila *a*, análises bioquímicas por meio da quantificação do acúmulo de prolina em folhas e raízes, além de parâmetros nutricionais, como teores e acúmulo de macro e micronutrientes e a eficiência de uso de Mn. Também foram mensurados indicadores de crescimento, incluindo volume radicular, área foliar, biomassa aérea e radicular e produção de massa seca, integrando respostas fisiológicas, bioquímicas e nutricionais ao estresse induzido pelo Mn^{2+} .

2.4.1 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi aferida no segundo e terceiro par de folhas do ramo principal, a partir do ápice das plantas, no período da manhã (07h às 10h). Antes das medições, as folhas selecionadas foram adaptadas ao escuro por 30 min, utilizando

clipes plásticos específicos, a fim de promover a abertura dos centros de reação e minimizar processos fisiológicos associados à energização da membrana do tilacóide. As leituras foram realizadas com fluorômetro portátil (PEA, MK2-9600, Hansatech, Norfolk, UK). Após a adaptação ao escuro, a face adaxial das folhas foi exposta a um pulso de excitação de alta irradiância ($3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 5 s, com comprimento de onda de 650 nm. Foram determinados os valores de fluorescência mínima (F_0), máxima (F_m) e variável (F_v). Os dados obtidos foram analisados pelo teste JIP (Srivastava et al., 1995; Strasser et al., 2010) e utilizados para calcular o rendimento quântico máximo da fotoquímica do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m). Adicionalmente, avaliou-se o desempenho do PSII por meio do índice de desempenho baseado na absorção (PI_{ABS}) e do índice de desempenho total (PI_{total}).

2.4.2 Determinação do teor de prolina

A concentração de prolina foi determinada na massa seca de folhas (MSF) e raízes (MSR) pelo método de Bates, Waldren e Teare (1973). As amostras foram maceradas em ácido sulfossalicílico 3% (p/v), centrifugadas e o sobrenadante reagiu com solução ácida de ninhidrina. Após aquecimento a 100°C e extração com tolueno, a absorbância foi lida em espectrofotômetro UV-VIS (modelo UV-M51) a 520 nm. A concentração foi estimada por curva padrão e expressa em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$.

2.4.3 Parâmetros nutricionais

2.4.3.1 Sintomatologia, teor e acúmulo de macro e micronutrientes nas plantas

Durante a condução do experimento, os sintomas nutricionais da parte aérea das plantas foram descritos e registrados fotograficamente (Canon EOS Rebel T7i) conforme o seu surgimento e também ao término do experimento, enquanto a avaliação do sistema radicular foi realizada apenas no encerramento. As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 70°C por 72 h e posteriormente trituradas em moinho tipo Wiley. Para a determinação do nitrogênio (N), amostras de 0,1 g foram submetidas à digestão sulfúrica e analisadas pelo método Kjeldahl (Bremner, 1996). Para os demais nutrientes (P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Zn e Cu), utilizaram-se amostras de 0,5 g, digeridas em mistura nítrico-perclórica (Sarruge & Haag, 1974), e as concentrações foram

determinadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES; PerkinElmer, modelo Optima 8300 DV). Com base nos teores obtidos na massa seca foliar (MSF), calculou-se o acúmulo de nutrientes (AN) nas folhas, segundo a equação: $AN\ (mg\ planta^{-1}) = \text{teor de nutriente}\ (g\ kg^{-1}) \times MSF\ (kg)$.

2.4.4 Eficiência do uso de Mn

A partir da massa seca foliar (MSF) e do conteúdo de Mn determinado nas folhas, foi calculada a eficiência de uso do nutriente (EUN-Mn), conforme metodologia descrita por Siddiqi & Glass (1981).

2.4.5 Área foliar e biomassa seca

A área foliar (AF) foi obtida com medidor eletrônico de área foliar (Scanner CI-202, CID, Inc., Camas, WA, EUA). A produção de massa seca foi determinada após a compartimentalização das plantas em parte aérea (folhas, caule e pecíolos) e raízes, seguida de lavagem em água deionizada, secagem em estufa de circulação forçada a 70 °C até massa constante e pesagem em balança de precisão (0,001 g). Posteriormente, foram obtidas a massa seca do caule (MSC), das folhas (MSF), da parte aérea (MSPA = MSC + MSF + pecíolos), das raízes (MSR) e a massa seca total (MST = MSPA + MSR).

2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à detecção de outliers, ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene (Levene, 1960). Atendidas as condições de normalidade e homocedasticidade, aplicamos análise de variância (ANOVA). Quando o valor de F foi significativo ($p < 0,05$), as médias das variáveis dependentes foram comparadas pelo teste de Tukey. Quando houve interação significativa entre os fatores doses de Mn^{2+} e cultivares de guaranazeiro, a interpretação dos resultados foi realizada por meio da decomposição da interação, avaliando o efeito das concentrações de Mn^{2+} dentro de cada cultivar, ou o efeito das cultivares dentro de cada concentração de Mn^{2+} . Adicionalmente, aplicou-se análise de componentes principais (PCA) para integrar as variáveis, visando identificar padrões multivariados de resposta entre cultivares e concentrações de Mn^{2+} .

3. RESULTADOS

A exposição às doses crescentes de Mn afetou significativamente ($p < 0,05$) o estado nutricional, a eficiência de uso de Mn, a fluorescência da clorofila *a*, o acúmulo de prolina e o crescimento das plantas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis*. As respostas variaram conforme a variável avaliada, sendo observados tanto efeitos isolados de doses ou cultivares quanto interação significativa entre cultivares e concentrações de Mn. Dessa forma, os resultados foram apresentados considerando os efeitos principais e, quando significativa, o desdobramento da interação, permitindo comparar as diferenças entre os genótipos CMU-300 e CMU-871 ao longo das doses aplicadas.

3.1. Acúmulo e teor de manganês nas folhas

Houve interação significativa entre cultivares e concentrações de Mn para o acúmulo e o teor de Mn nas folhas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* ($p < 0,05$; Figura 1). O aumento da disponibilidade de Mn elevou o acúmulo foliar do elemento, com os maiores valores observados em $40,0 \text{ mg dm}^{-3}$ para ambas as cultivares (Figura 1B). Na comparação entre cultivares, a CMU-300 apresentou maior acúmulo de Mn nas concentrações de $10,0$ e $20,0 \text{ mg dm}^{-3}$, enquanto nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os genótipos (Figura 1A). Para o teor de Mn, também foi observado incremento com o aumento das concentrações aplicadas, atingindo os maiores teores em $40,0 \text{ mg dm}^{-3}$ (Figura 1D). A CMU-300 apresentou maior teor foliar de Mn nas concentrações de $10,0$, $20,0$ e $40,0 \text{ mg dm}^{-3}$, enquanto nas concentrações de 0 , $2,5$ e $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ as cultivares não diferiram entre si (Figura 1C).

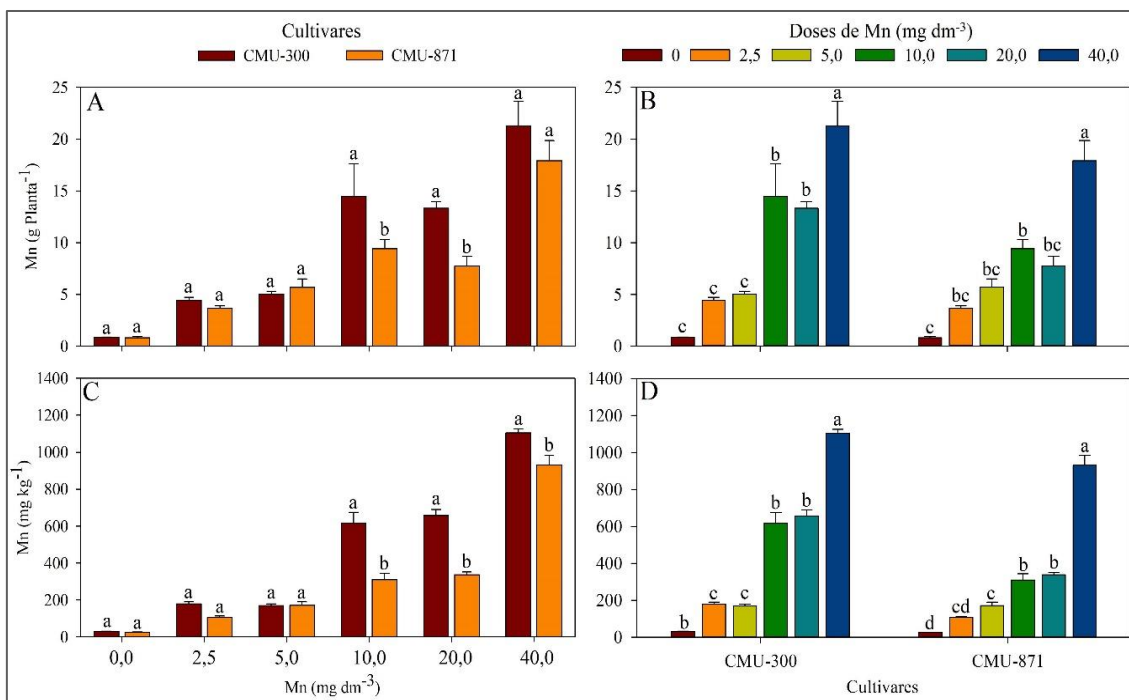


Figura 1. Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre o acúmulo (A, B) e teor de Mn nas folhas (C, D) de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, após 250 dias de exposição. Desdobramento de cultivares dentro de doses de Mn (A, C) e de doses dentro de cada cultivar (B, D). As barras representam o erro padrão da média ($n = 4$). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2 Acúmulo de nutrientes nas folhas

Houve efeito simples das concentrações de Mn e das cultivares sobre o acúmulo de macronutrientes nas folhas das plantas ($p < 0,05$; Figura 2). O aumento da disponibilidade de Mn reduziu significativamente o acúmulo de N, P, K e Ca, sobretudo nas concentrações de 20,0 e 40,0 mg dm⁻³ (Figura 2A, C, E, G). Entre as cultivares, a CMU-871 apresentou maiores acúmulos de N, P e K em relação à CMU-300 (Figura 2B, D, F), enquanto o acúmulo de Ca foi superior na CMU-300 (Figura 2H).

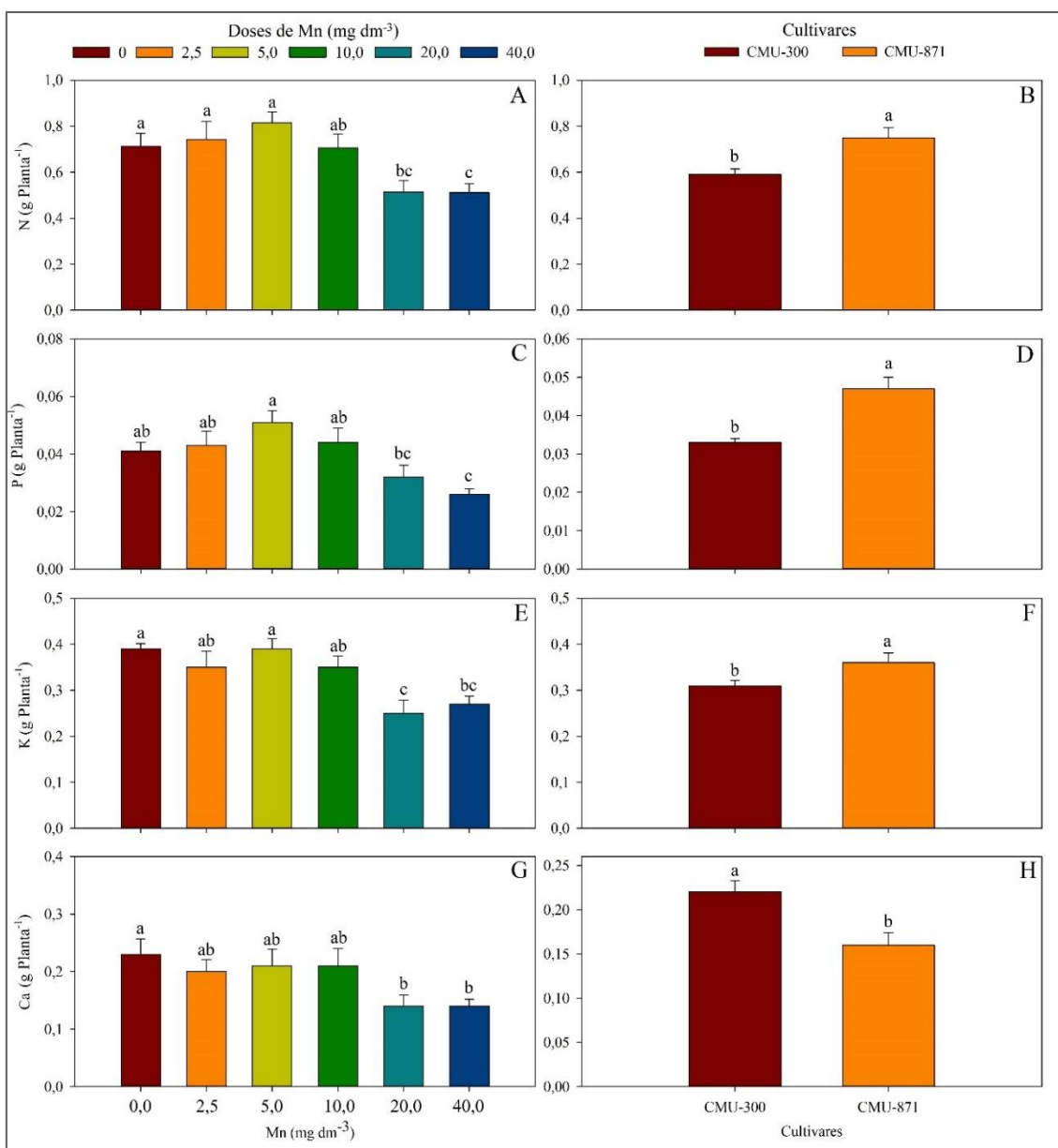


Figura 2. Acúmulo de nitrogênio - N (A, B), fósforo - P (C, D), potássio - K (E, F) e cálcio - Ca (G, H) nas folhas de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. Em A, C, E e G, são apresentados os efeitos das doses de Mn; em B, D, F e H, os efeitos das cultivares. As barras representam o erro padrão da média, (n=4). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Padrão semelhante foi observado para Mg, S, Zn e B, que também apresentaram redução significativa com o aumento das concentrações de Mn, sobretudo nas maiores disponibilidades do elemento ($p < 0,05$; Figura 3A-D). Para Fe e Cu, houve interação significativa entre cultivares e concentrações de Mn ($p < 0,05$; Figura 3E-H). A CMU-300 apresentou maior acúmulo de Fe em 0 e 2,5 mg dm⁻³, enquanto nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os genótipos (Figura 3E). No desdobramento das concentrações dentro de cada cultivar, o Fe variou significativamente

em ambos os genótipos, com maiores acúmulos nas menores concentrações de Mn para CMU-300 e entre 5,0 e 10,0 mg dm⁻³ para CMU-871, seguido de redução significativa nas maiores concentrações (Figura 3F). Para Cu, a CMU-871 apresentou maiores acúmulos entre 0 e 10,0 mg dm⁻³, sem diferença entre os genótipos em 20,0 e 40,0 mg dm⁻³ (Figura 3G). Dentro das cultivares, houve redução significativa do Cu apenas na CMU-871 nas maiores concentrações de Mn, enquanto a CMU-300 não apresentou efeito significativo ($p = 0,41$; Figura 3H).

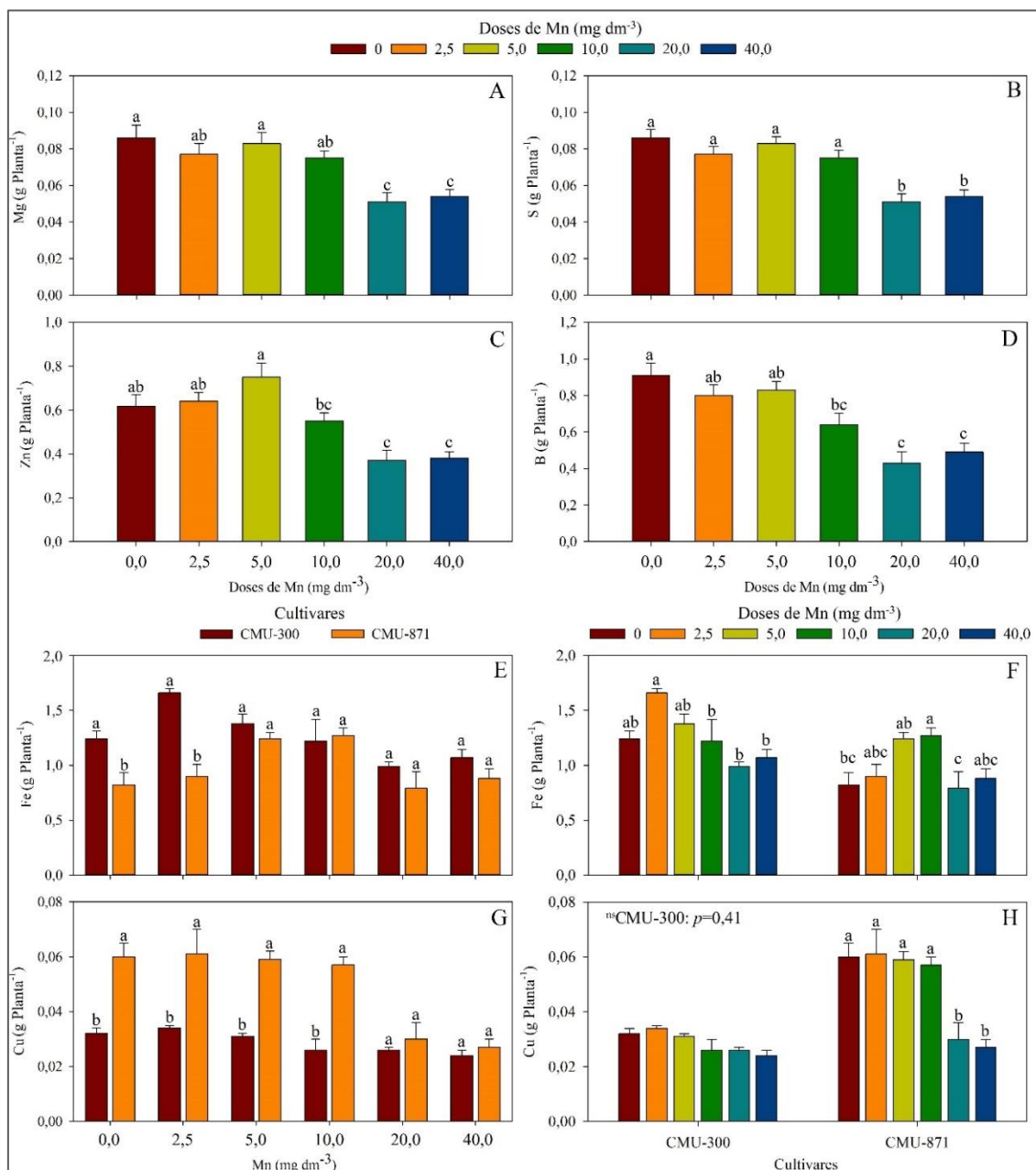


Figura 3. Acúmulo de Mg (A), S (B), Zn (C), B (D), Fe (E, F) e Cu (G, H) nas folhas de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. Em A, B, C e D, são apresentados os efeitos isolados das doses de Mn. Para Fe e Cu, houve interação entre cultivares e doses de Mn, com desdobramento de cultivares dentro de cada dose (E, G) e de doses dentro de cada cultivar (F, H). As

barras representam o erro padrão da média ($n = 4$). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 Concentração de nutrientes nas folhas

As concentrações foliares dos nutrientes foram alteradas pelas concentrações de Mn e pelos genótipos avaliados ($p < 0,05$; Figuras 4 e 5). Para N, Ca, Mg, S e B, houve efeito simples das cultivares, sendo a CMU-871 superior apenas para N, enquanto a CMU-300 apresentou maiores concentrações de Ca, Mg, S e B (Figura 4A-E). Para B, houve efeito simples das concentrações de Mn, com redução significativa nas concentrações de 10,0 e 20,0 mg dm^{-3} em relação ao tratamento controle, enquanto 2,5, 5,0 e 40,0 mg dm^{-3} apresentaram valores intermediários (Figura 4F).

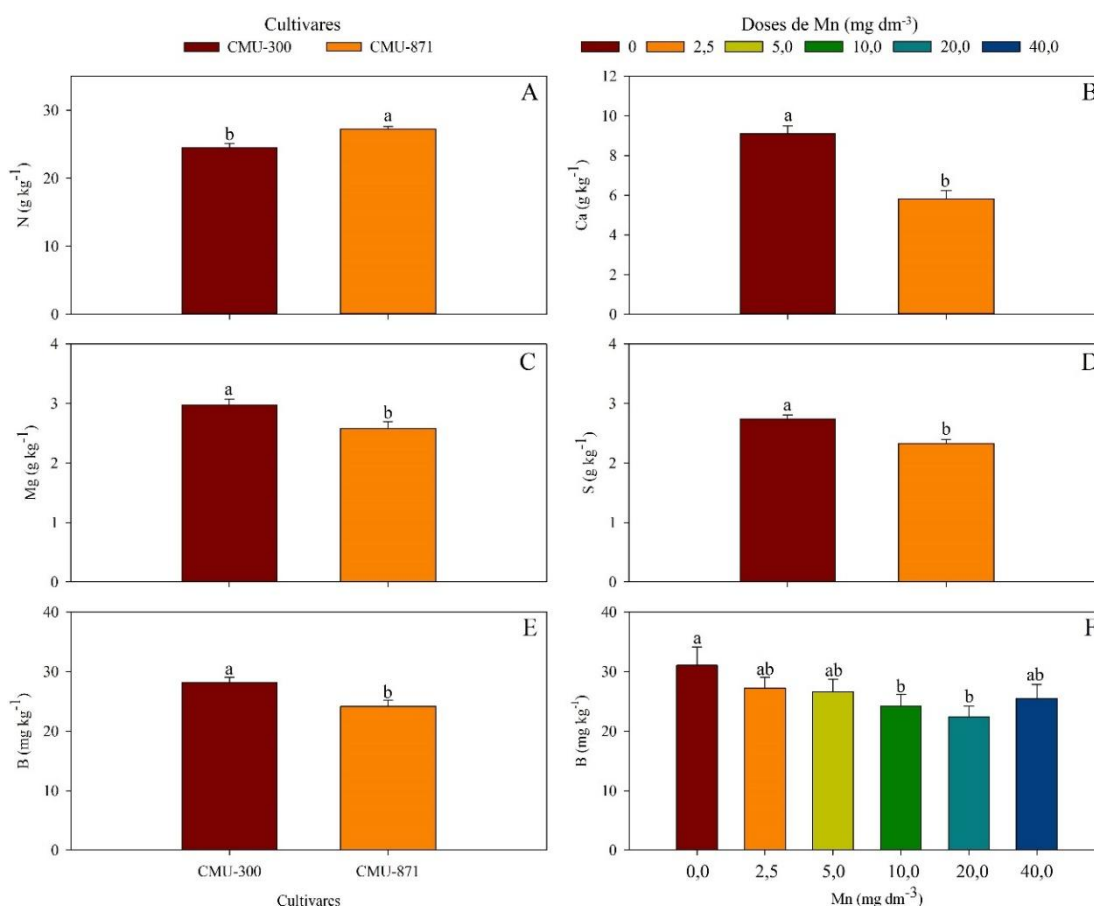


Figura 4. Concentração de nitrogênio - N (A), cálcio - Ca (B), magnésio - Mg (C), enxofre - S (D), boro - B (E) e ferro - Fe (F) nas folhas de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. Em A, B, C, D e E, são apresentados os efeitos isolados das cultivares; em F, é apresentado o efeito isolado das doses de Mn. As barras representam o erro padrão da média ($n = 4$). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para P, Cu, Zn e Fe, a resposta foi condicionada pela interação significativa entre genótipos e concentrações de Mn ($p < 0,05$; Figura 5A-H). A concentração de P diferiu entre os genótipos apenas nas concentrações de 5,0, 10,0 e 20,0 mg dm⁻³, com maiores valores na CMU-871 (Figura 5A). No desdobramento das concentrações dentro de cada genótipo, o P não foi significativo para CMU-300 ($p = 0,83$), enquanto na CMU-871 houve aumento até 20,0 mg dm⁻³, seguido de redução em 40,0 mg dm⁻³ (Figura 5B). Para Cu, a CMU-871 apresentou maiores concentrações na maioria das concentrações de Mn, enquanto em 40,0 mg dm⁻³ não houve diferença significativa entre os genótipos (Figura 5C). Dentro dos genótipos, a concentração de Cu variou significativamente, com redução mais evidente na CMU-871 em 40,0 mg dm⁻³ (Figura 5D).

Para Zn, a CMU-300 apresentou maiores concentrações em 0, 2,5 e 10,0 mg dm⁻³, enquanto nas concentrações de 5,0, 20,0 e 40,0 mg dm⁻³ não houve diferença significativa entre os genótipos (Figura 5E). No desdobramento das concentrações, o Zn não apresentou efeito significativo para CMU-300 ($p = 0,061$), mas variou na CMU-871, com maior concentração em 5,0 mg dm⁻³ (Figura 5F). Para Fe, a CMU-300 apresentou maiores concentrações que a CMU-871 em 0, 2,5, 5,0, 10,0 e 40,0 mg dm⁻³, enquanto em 20,0 mg dm⁻³ os genótipos não diferiram entre si (Figura 5G). Dentro de cada genótipo, o Fe variou significativamente com as concentrações de Mn, com maiores valores em 2,5 mg dm⁻³ para CMU-300 e em 40,0 mg dm⁻³ para CMU-871 (Figura 5H).

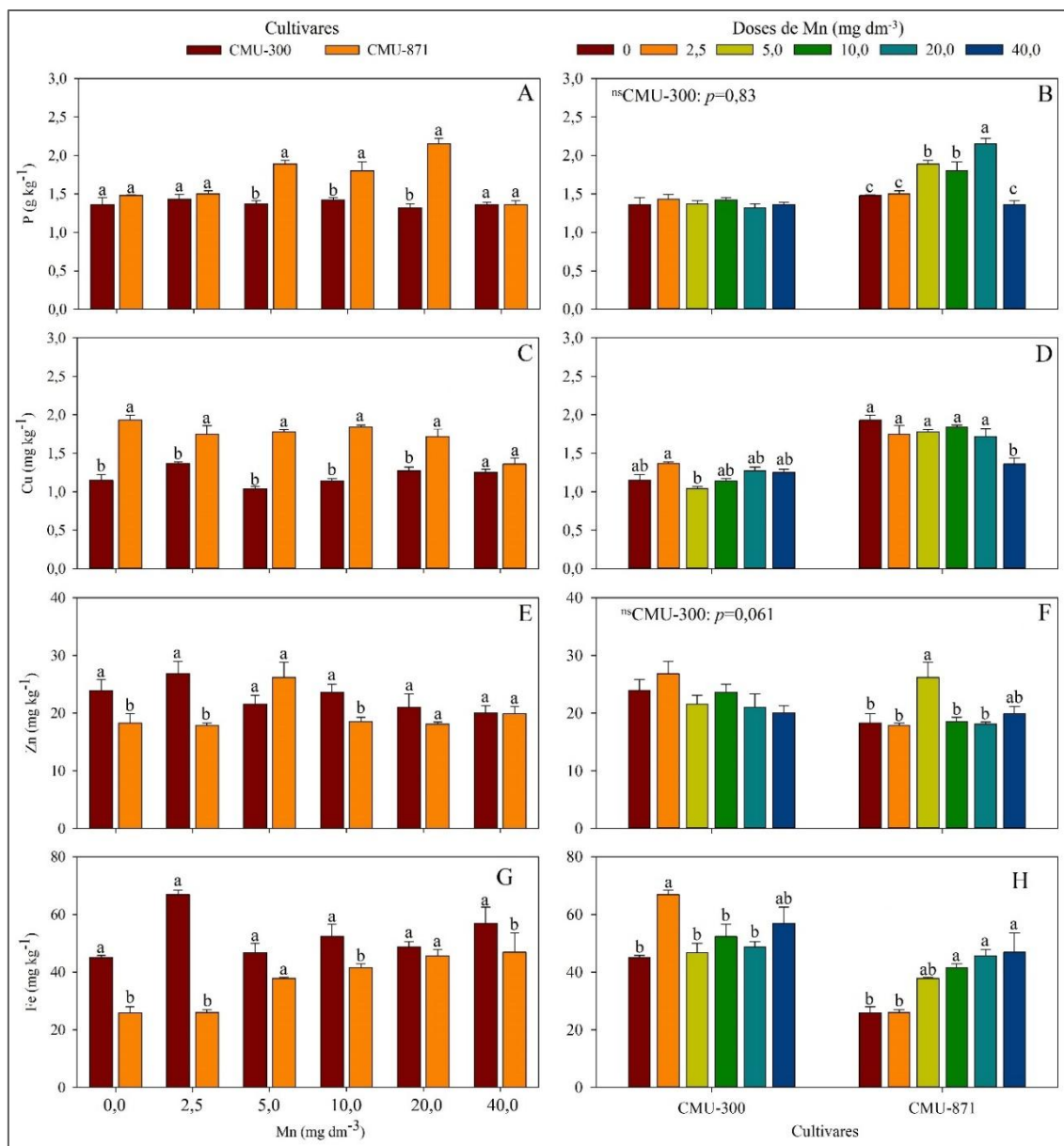


Figura 5. Concentração de fósforo - P (A, B), cobre - Cu (C, D), zinco - Zn (E, F) e ferro - Fe (G, H) nas folhas de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. Em A, C, E e G, as letras comparam as cultivares dentro de cada dose de Mn; em B, D, F e H, as letras comparam as doses de Mn dentro de cada cultivar. As barras representam o erro padrão da média (n = 4). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.4 Sintomatologia nutricional

A caracterização visual evidenciou alterações na coloração e na morfologia foliar das plantas em resposta ao aumento da disponibilidade de Mn (Figuras 6 e 7). No tratamento controle, observamos leve clorose foliar, especialmente em folhas jovens da cultivar CMU-300. Entre 2,5 e 10,0 mg dm⁻³ de Mn, a CMU-300 apresentou melhor aspecto visual, com folhas mais verdes e coloração mais uniforme em relação ao controle.

Na CMU-871, a coloração foliar manteve-se relativamente estável entre 0 e 5,0 mg dm⁻³, sem alterações visuais acentuadas. A partir de 10,0 mg dm⁻³, o amarelecimento tornou-se mais evidente na CMU-871, enquanto na CMU-300 os sintomas se intensificaram principalmente nas concentrações de 20,0 e 40,0 mg dm⁻³, com folhas menores, enrugamento do limbo e redução da expansão foliar (Figura 6).

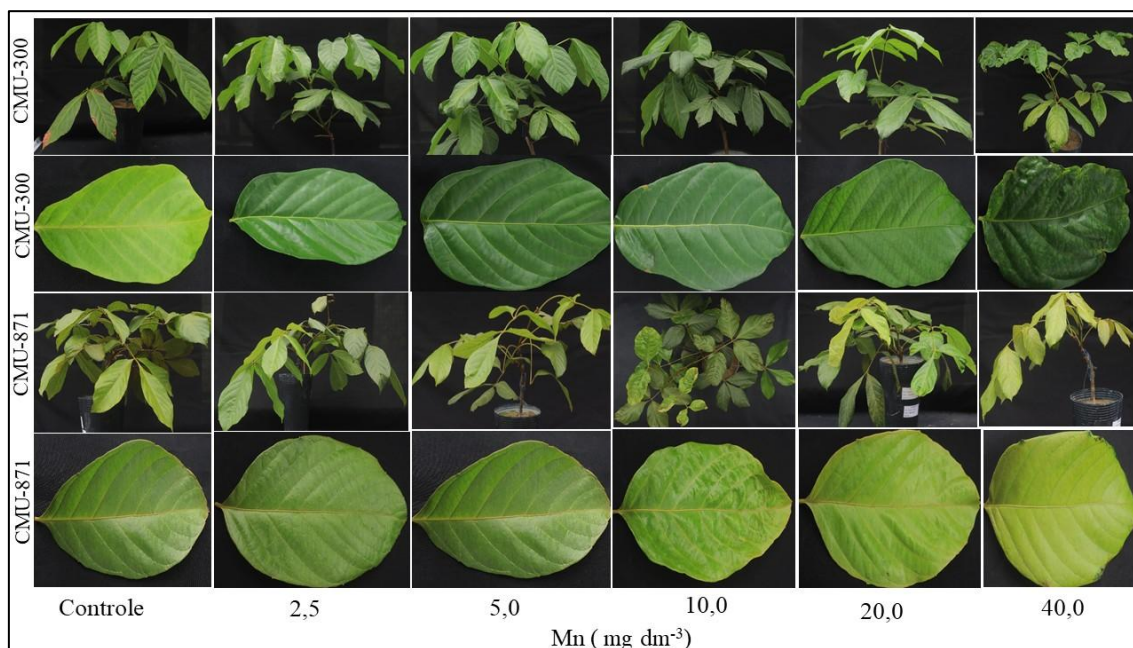


Figura 6. Aparência visual das plantas inteiras (primeira e terceira fileiras) e dos recortes foliares representativos (segunda e quarta fileiras) das cultivares de guaranazeiro BRS-Amazonas (CMU-300) e BRS-Maués (CMU-871) submetidas a doses crescentes de manganês no solo.

Na avaliação ampliada, os sintomas foram caracterizados por clorose internerval e enrugamento foliar na CMU-300 (Figura 7A), além de amarelecimento em folhas jovens sob maior disponibilidade de Mn, sugerindo desequilíbrio nutricional associado ao excesso de Mn (Figura 7B, D). Na CMU-871, os sintomas foram marcados por clorose irregular e enrugamento do limbo foliar, principalmente sob 10,0 mg dm⁻³ de Mn (Figura 7C).

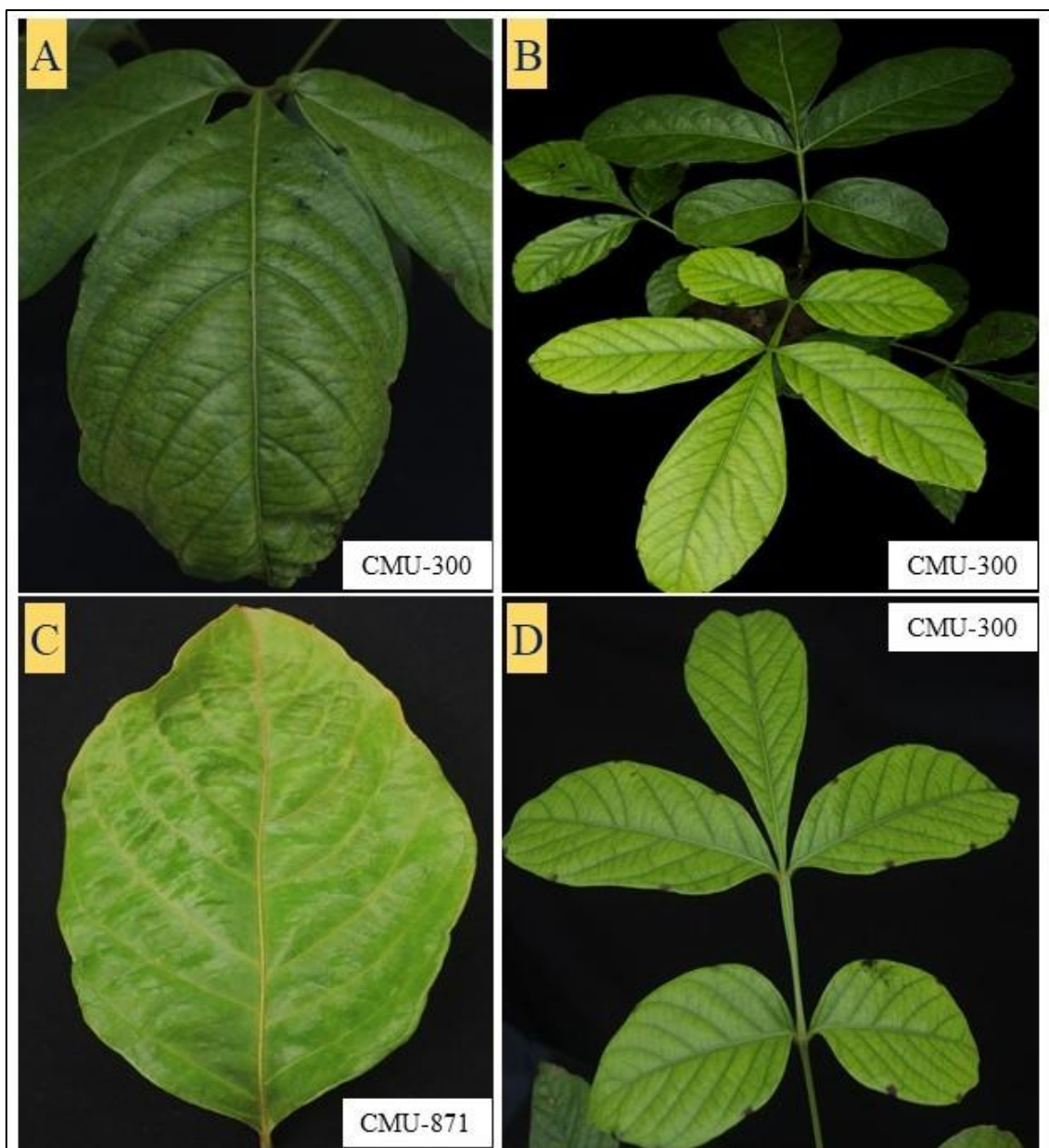


Figura 7. Sintomas típicos de toxicidade por Mn e deficiência induzida de Fe em guaranazeiro. (A) clorose internerval e enrugamento foliar na cultivar BRS-Amazonas (CMU-300); (B) e (D) deficiência de Fe induzida pelo excesso de Mn (40 mg dm^{-3}) em BRS-Amazonas; (C) toxicidade por Mn em BRS-Maués (CMU-871) sob 10 mg dm^{-3} .

3.5 Eficiência do uso de Mn

A eficiência de uso de Mn (EUMn) foi significativamente afetada pelas concentrações de Mn e pelos genótipos avaliados ($p < 0,05$; Figura 8). O aumento da disponibilidade de Mn reduziu acentuadamente a EUMn, com maior aproveitamento do nutriente no tratamento controle e queda expressiva já a partir de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ (Figura 8A). Nas concentrações de $10,0$, $20,0$ e $40,0 \text{ mg dm}^{-3}$, as plantas apresentaram menor

eficiência de uso de Mn, indicando menor conversão do elemento absorvido em crescimento vegetal. Entre os genótipos, a CMU-871 apresentou maior eficiência de uso de Mn em relação à CMU-300 (Figura 8B).

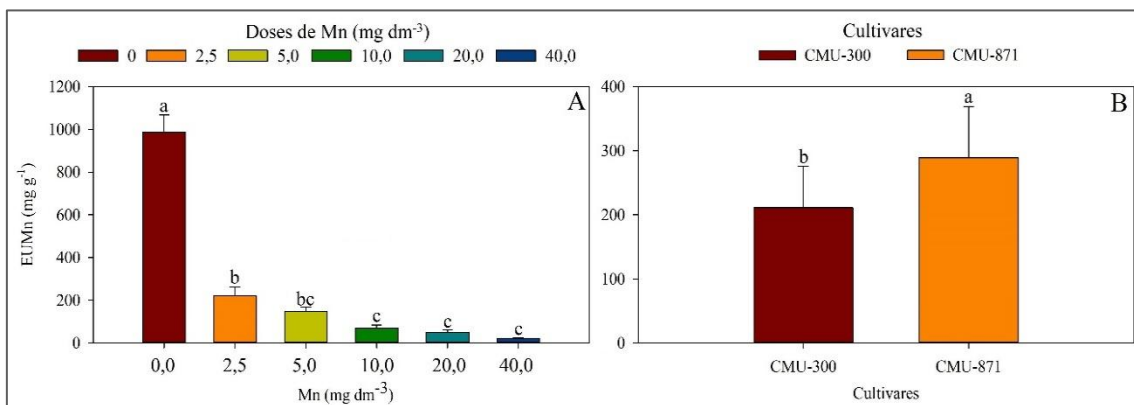


Figura 8. Eficiência de uso de Mn em *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. Em (A), é apresentado o efeito isolado das doses de Mn; em (B), o efeito isolado das cultivares. As barras representam o erro padrão da média ($n = 4$). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.6 Fluorescência da clorofila *a*

A eficiência fotoquímica foi afetada pela interação entre genótipos e concentrações de Mn ($p < 0,05$; Figura 9). A CMU-871 apresentou maior PI_{total} , PI_{abs} e F_v/F_m ao longo de ampla faixa de disponibilidade de Mn, principalmente entre 0 e 20,0 mg dm⁻³ (Figura 9A, C, E). Em 40,0 mg dm⁻³, as diferenças entre genótipos foram reduzidas para PI_{total} e PI_{abs} (Figura 9A, C). Dentro de cada genótipo, PI_{total} e PI_{abs} não foram significativos na CMU-300, com $p = 0,09$ e $p = 0,55$, respectivamente (Figura 9B, D). Na CMU-871, houve redução significativa desses índices em 40,0 mg dm⁻³, enquanto F_v/F_m não foi alterado pelas concentrações de Mn nesse genótipo ($p = 0,13$; Figura 9F).

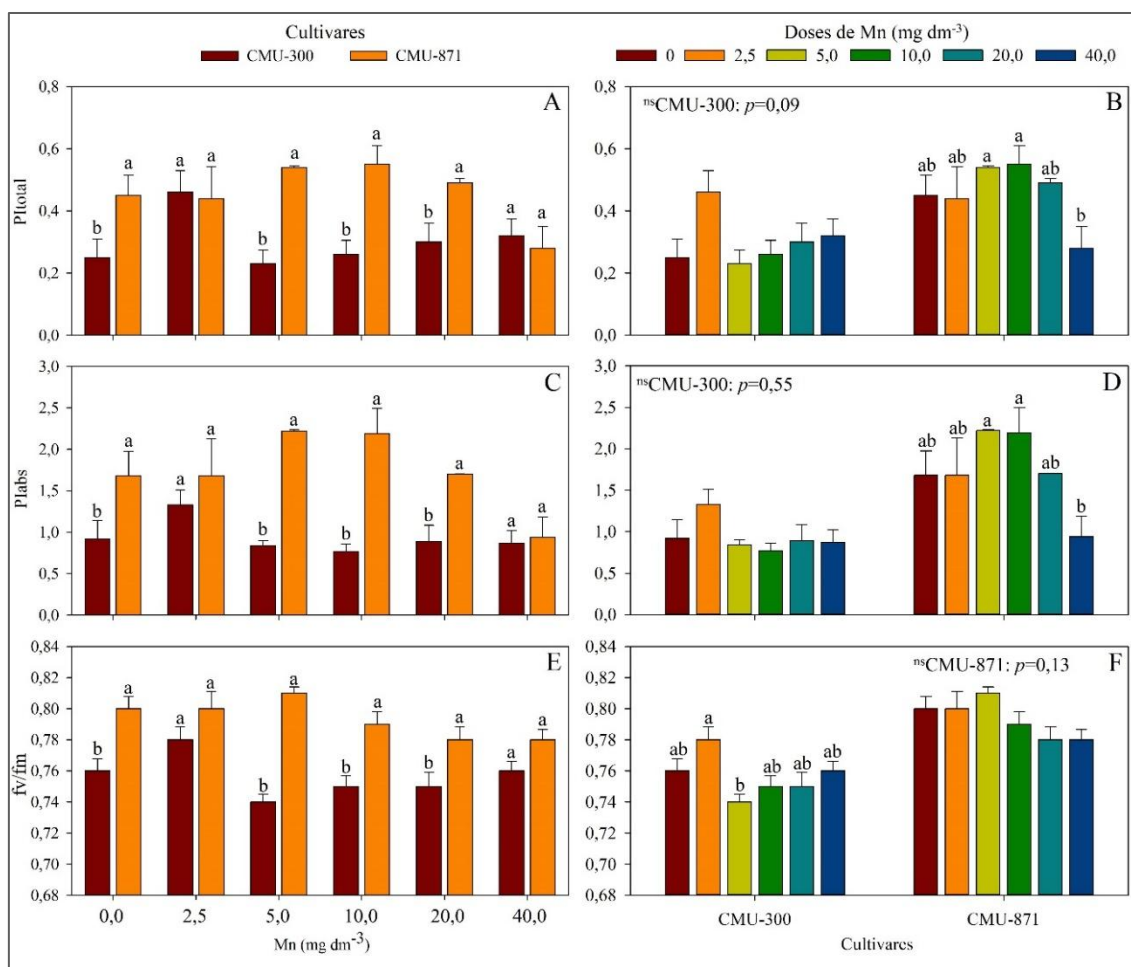


Figura 9. Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas de *P. cupana* var. *sorbilis*, após 250 dias de exposição. São apresentados o índice de desempenho total - PI_{total} (A, B), índice de desempenho fotoquímico - PI_{abs} (C, D) e eficiência quântica máxima do fotossistema II - F_v/F_m (E, F). O desdobramento da interação mostra a comparação de cultivares dentro de cada dose de Mn (A, C, E) e de doses dentro de cada cultivar (B, D, F). As barras representam o erro padrão da média (n = 4). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.7 Acúmulo de prolina nas folhas e raízes

A resposta bioquímica das plantas ao Mn foi evidenciada por alterações no teor de prolina em raízes e folhas, com interação significativa entre genótipos e concentrações de Mn ($p < 0,05$; Figura 10). Nas raízes, a CMU-871 apresentou maior teor de prolina nas concentrações de 2,5, 5,0, 20,0 e 40,0 mg dm⁻³, enquanto a CMU-300 foi superior no controle; em 10,0 mg dm⁻³, não houve diferença entre os genótipos (Figura 10A). Dentro de cada genótipo, a CMU-300 apresentou maior teor de prolina radicular no controle e nas maiores concentrações de Mn, com redução em 2,5 e 5,0 mg dm⁻³. Na CMU-871,

houve incremento gradual da prolina radicular com o aumento da disponibilidade de Mn, atingindo o maior teor em 40,0 mg dm⁻³ (Figura 10B).

Nas folhas, a CMU-871 apresentou maior teor de prolina em todas as concentrações de Mn (Figura 10C). Dentro de cada genótipo, a CMU-300 apresentou redução significativa da prolina foliar com o aumento da disponibilidade de Mn, principalmente a partir de 10,0 mg dm⁻³. Na CMU-871, os maiores teores foram mantidos entre 0 e 20,0 mg dm⁻³, com redução significativa apenas em 40,0 mg dm⁻³ (Figura 10D).

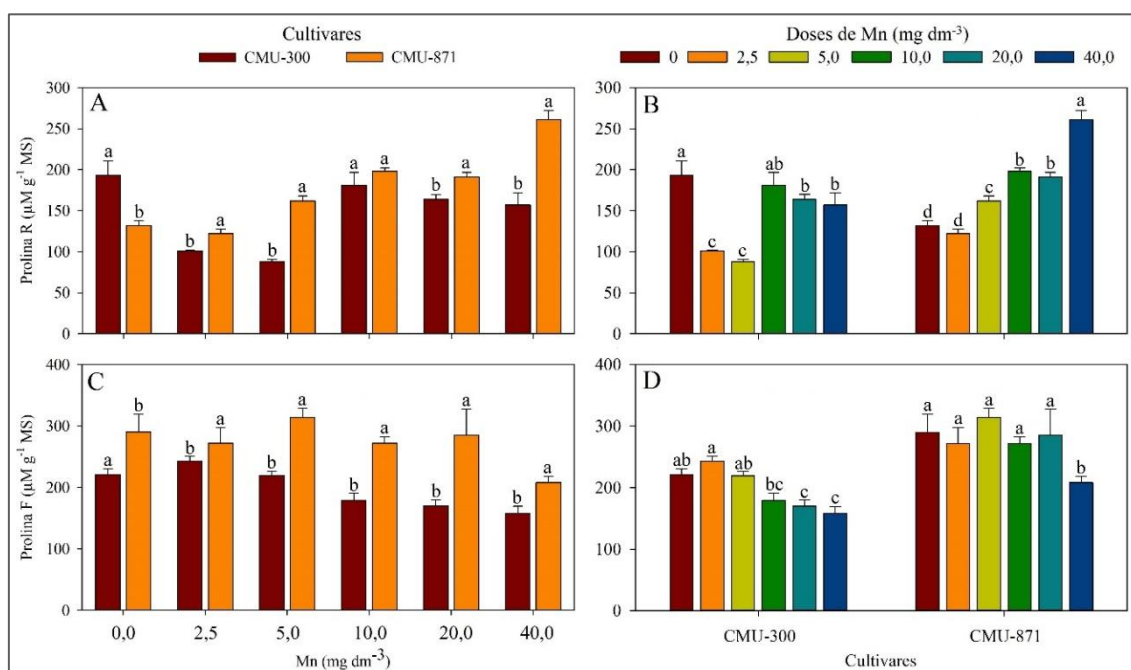


Figura 10. Efeito da interação entre cultivares e doses de Mn sobre o teor de prolina em raízes (A, B) e folhas (C, D) de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, após 250 dias de exposição. O desdobramento da interação mostra a comparação de cultivares dentro de cada dose de Mn (A, C) e de doses dentro de cada cultivar (B, D). As barras representam o erro padrão da média (n = 4). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.8 Área foliar e produção de biomassa

O crescimento das plantas foi significativamente modulado pelas concentrações de Mn e pelos genótipos avaliados ($p < 0,05$; Figura 11). O aumento da disponibilidade de Mn comprometeu o acúmulo de biomassa, com reduções significativas na massa seca foliar, massa seca do caule e massa seca total, sobretudo nas concentrações de 20,0 e 40,0 mg dm⁻³ (Figura 11A, C, E). A massa seca de raízes também foi reduzida, com efeito mais pronunciado em 40,0 mg dm⁻³ (Figura 11G). A área foliar apresentou padrão semelhante, com redução significativa a partir de 10,0 mg dm⁻³ e menor expansão foliar

nas maiores concentrações de Mn (Figura 11H). Entre os genótipos, a CMU-871 apresentou maior massa seca foliar, massa seca do caule e massa seca total em relação à CMU-300 (Figura 11B, D, F).

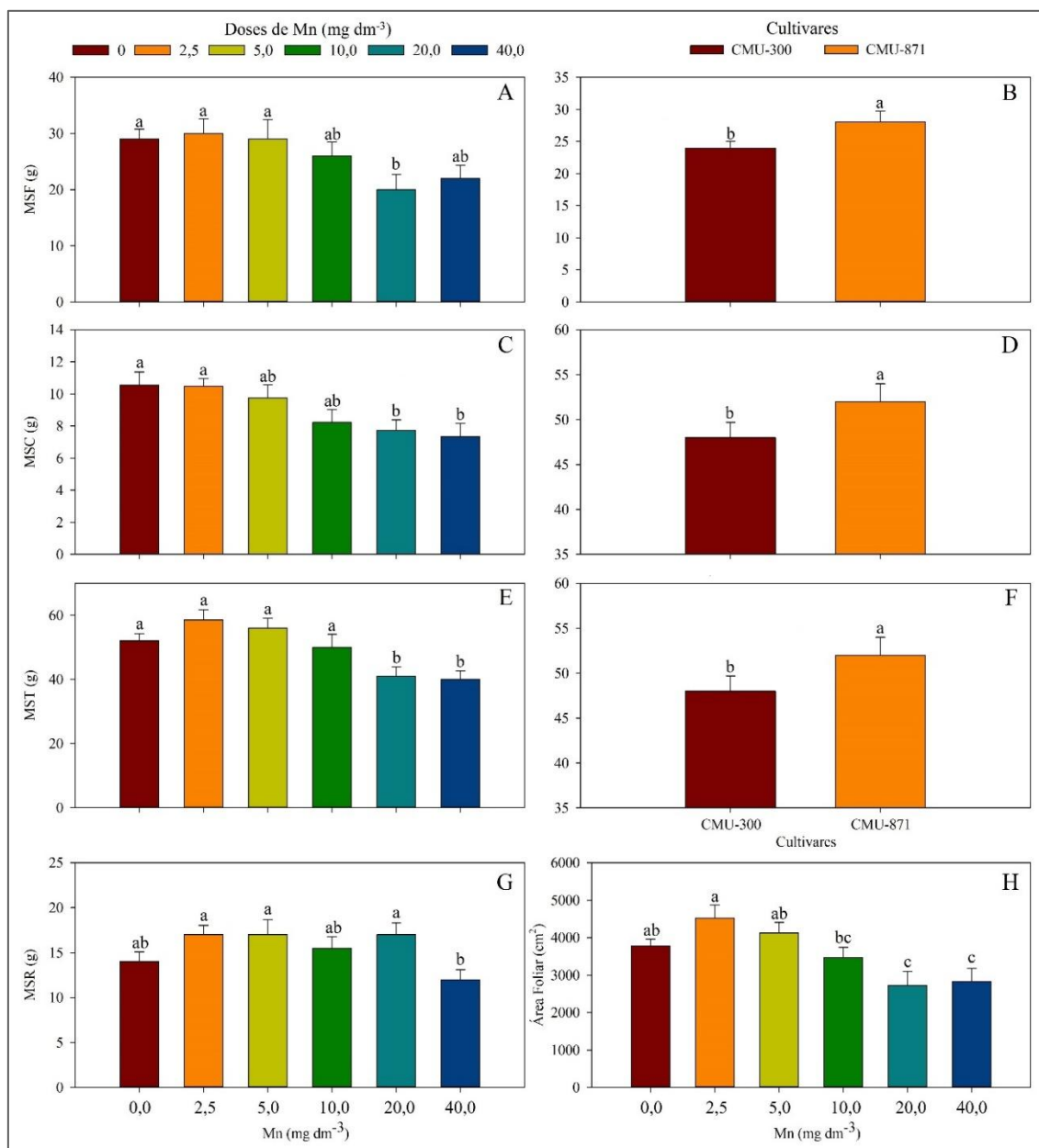


Figura 11. Variáveis de crescimento de *P. cupana* var. *sorbilis*, cultivares CMU-300 e CMU-871, submetidas a doses crescentes de Mn por 250 dias. São apresentadas a massa seca foliar - MSF (A, B), massa seca do caule - MSC (C, D), massa seca total - MST (E, F), massa seca de raízes - MSR (G) e área foliar (H). Em A, C, E, H e G, são apresentados os efeitos isolados das doses de Mn e em B, D e F, os efeitos isolados das cultivares. As barras representam o erro padrão da média (n = 4). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.9 Análise multivariada

A análise de componentes principais (PCA) indicou separação entre as cultivares de guaranazeiro em função das respostas às concentrações de Mn (Figura 12). As duas primeiras componentes explicaram 61,47% da variação total dos dados, sendo 37,98% atribuídos à CP1 e 23,49% à CP2 (Figura 12). A CP1 foi responsável pela maior parte da ordenação dos tratamentos, separando principalmente os grupos posicionados à direita e à esquerda do biplot. À direita da CP1, observaram-se vetores associados às variáveis de fluorescência da clorofila *a*, como F_v/F_m , F_v , F_m , PI_{abs} e PI_{total} , além de prolina foliar e concentração foliar de P. Nessa região, concentraram-se principalmente amostras do genótipo CMU-871. Em contraste, à esquerda da CP1, houve maior associação com variáveis relacionadas ao acúmulo mineral, como Concentração de Mn, Fe e Ca, região onde se posicionaram predominantemente amostras do genótipo CMU-300.

A CP2 separou principalmente variáveis associadas ao crescimento e à biomassa, posicionadas na porção superior do gráfico, incluindo massa seca total, massa seca da parte aérea, massa seca foliar, massa seca do caule e área foliar. Também se associaram a essa região alguns nutrientes da parte aérea, como S, Zn, B e Mg. Na porção inferior da CP2, observaram-se variáveis relacionadas aos teores de Mn, Fe e Ca, além de parte das amostras submetidas às maiores concentrações de Mn.

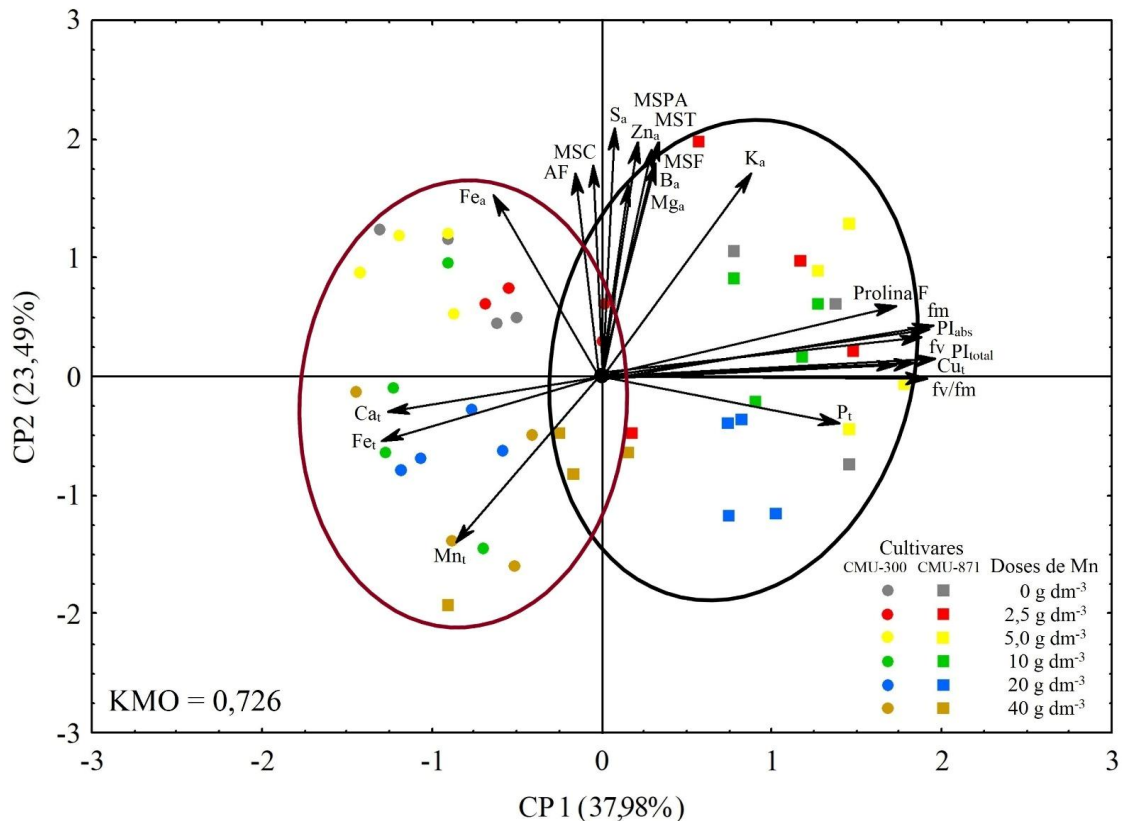


Figura 12. Biplot da análise de componentes principais (PCA) das variáveis de crescimento, fluorescência da clorofila *a*, prolina e nutrição mineral de duas cultivares de guaranazeiro submetidas a concentrações crescentes de Mn. Os símbolos indicam as cultivares: círculos representam CMU-300 e quadrados representam CMU-871. As cores indicam as doses de Mn: vermelho = 0 mg dm⁻³; amarelo = 2,5 mg dm⁻³; verde = 10 mg dm⁻³; azul = 20 mg dm⁻³; marrom = 40 mg dm⁻³. As setas representam as variáveis analisadas, e sua direção indica a associação com os tratamentos e cultivares no espaço multivariado. As letras minúsculas após os elementos minerais indicam o tipo de variável nutricional: t = teor nutricional e a = acúmulo nutricional.

4. DISCUSSÃO

Embora essencial às plantas, o Mn pode se tornar fitotóxico em solos ácidos e/ou encharcados, onde sua disponibilidade aumenta e passa a comprometer o metabolismo e o crescimento vegetal (Foy, 1984; El-Jaoual & Cox, 1998). Neste estudo, demonstramos que o excesso de Mn reduz a biomassa e a área foliar do guaranazeiro, diminui o acúmulo de nutrientes minerais, altera a eficiência fotoquímica e induz sintomas foliares típicos de toxidez, como clorose internerval e enrugamento do limbo, mais evidentes na CMU-300. Além disso, o aumento da prolina, sobretudo nas raízes, indica ativação de resposta bioquímica ao estresse manganêsico (Szabados & Savouré, 2010; Rejeb et al., 2014).

Essas respostas foram claramente genótipo-dependentes: a CMU-300 parece apresentar maior sensibilidade ao excesso de Mn, principalmente em 20 e 40 mg dm⁻³, enquanto a CMU-871 mostrou-se mais tolerante, mantendo maior eficiência de uso do nutriente e maior estabilidade fotoquímica sob elevada disponibilidade do elemento. De forma inédita para o guaranazeiro, esses achados preenchem uma lacuna e ampliam a compreensão sobre os mecanismos de toxidez manganêsica na espécie, além de apontarem a CMU-871 como material promissor para seleção e manejo em solos ácidos com elevada disponibilidade de Mn.

4.1 O excesso de Mn reduz a biomassa e a área foliar do guaranazeiro

Em concordância com estudos que avaliaram os efeitos do estresse por Mn em diferentes espécies vegetais (Lei et al., 2007; Stoyanova et al., 2009; Millaleo et al., 2013; Zambrosi et al., 2016; Santos et al., 2017; Guo et al., 2025), a toxidez por Mn comprometeu diretamente o crescimento do guaranazeiro (Figura 11). Plantas de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* submetidas a concentrações crescentes de Mn apresentaram redução da biomassa e da área foliar, especialmente a partir de 20 mg dm⁻³ de Mn (Figura 11). Esse efeito foi mais pronunciado na parte aérea, enquanto a massa seca das raízes apresentou redução significativa apenas em 40 mg dm⁻³, em concordância com a visão de que a parte aérea é mais suscetível à toxicidade do Mn do que o sistema radicular (Mukhopadhyay; Sharma, 1991; Li et al., 2010). A área foliar mostrou-se ainda mais sensível, com redução a partir de 10 mg dm⁻³ em ambas as cultivares, o que pode ter limitado a interceptação de luz, a assimilação de carbono e, conseqüentemente, o acúmulo de biomassa (Fariduddin et al., 2015; Zambrosi et al., 2016).

Essas reduções coincidiram com o aumento das concentrações foliares de Mn, sobretudo na CMU-300, e com a intensificação dos sintomas visuais de toxidez (Figuras 1C, D; 6 e 7), além de menor acúmulo de nutrientes minerais como N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, B e Fe, bem como limitação fotoquímica. Esse conjunto de respostas é semelhante ao descrito em outras espécies sob excesso de Mn, nas quais o acúmulo do metal esteve associado à redução do crescimento, alterações nutricionais e sintomas foliares (Wissemeier & Horst, 1992; Lavres Junior et al., 2010; Santos et al., 2017).

4.2 O excesso de Mn altera o estado nutricional do guaranazeiro e induz sintomas foliares

O aumento da disponibilidade de Mn alterou o estado nutricional das cultivares de guaranazeiro, elevando o teor e o acúmulo foliar do elemento (figura 1), mas reduzindo nutrientes essenciais (Figuras 2, 3, 4 e 5). Esse padrão evidencia a natureza multifatorial da toxidez por Mn, na qual o excesso compromete a homeostase mineral (Fernando e Lynch, 2015) ao interferir na absorção, translocação e utilização de nutrientes, afetando principalmente Ca, Mg e Fe por meio de interações iônicas e antagonismos nutricionais (El-Jaoual & Cox, 1998; Millaleo et al., 2010). Esses efeitos podem resultar em deficiências induzidas e desequilíbrios minerais, como observado em soja, onde o excesso de Mn reduziu Mg, Ca e Fe na parte aérea (Santos et al., 2017), e em *Cedrela fissilis*, com reduções severas de N, K, S, Zn e B (Rosado, 2021). No presente estudo, esse padrão tornou-se mais evidente a partir de 20 mg dm⁻³, quando o excesso de Mn reduziu amplamente o acúmulo dos nutrientes avaliados, indicando comprometimento progressivo da homeostase mineral. Entre os genótipos, a CMU-871 manteve maiores acúmulos de N, P e K, sugerindo maior capacidade de preservar o estado nutricional sob estresse manganêsico, resposta semelhante à tolerância descrita em algodão (Foy et al., 1995) e trigo (Khabaz-Saberi et al., 2010). Esse comportamento reforça que a intensidade da toxidez por Mn varia conforme o genótipo e envolve não apenas o acúmulo do elemento, mas também a capacidade de manter a homeostase mineral sob excesso (Fernando e Lynch, 2015; Inostroza-Blancheteau et al., 2017).

A redução no acúmulo de nutrientes sob excesso de Mn pode estar associada à sobreposição entre menor crescimento, competição iônica e alterações nos sistemas de absorção e transporte de nutrientes (Millaleo et al., 2010). Em altas concentrações, o Mn²⁺ pode competir por sítios de adsorção na rizosfera e por sistemas transmembranares de absorção, especialmente transportadores das famílias NRAMP e ZIP, que apresentam baixa especificidade para cátions divalentes e podem mediar a entrada de Mn²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺ e outros nutrientes (Pittman, 2005; Pessoa et al., 2026). Essa sobreposição funcional é bem demonstrada em *Arabidopsis thaliana*, na qual IRT1, da família ZIP, e NRAMP1 participam de forma cooperativa da absorção de Fe e Mn, fornecendo uma base molecular para a competição entre cátions divalentes nas raízes (Vert et al., 2002; Castaings et al., 2016). Como esses transportadores apresentam baixa especificidade, alterações no estado nutricional de Fe e Mn podem modificar também a entrada de outros micronutrientes

(Alejandro et al., 2020), como Zn e Cu. Por outro lado, Ca^{2+} e Mg^{2+} podem ser afetados principalmente por interações físico-químicas em sítios de troca e adsorção nos colóides do solo (Pessoa et al., 2026), alterando a disponibilidade de cátions na rizosfera.

A expressão visual da toxidez por Mn nas cultivares de guaranazeiro acompanhou as alterações nutricionais e fisiológicas observadas nas folhas. Embora o Mn seja essencial ao metabolismo vegetal, concentrações foliares consideradas normais podem variar amplamente entre espécies, geralmente entre 30 e 500 mg kg^{-1} MS (Clarkson, 1988), e os limites de toxidez dependem fortemente do genótipo (Foy et al., 1995; El-Jaoual & Cox, 1998). No presente estudo, considerando o conjunto das respostas nutricionais, visuais e de crescimento, teores foliares de 107 a 617 mg kg^{-1} MS na CMU-300 e inferiores a 300 mg kg^{-1} MS na CMU-871 parecem estar associados a melhor equilíbrio fisiológico das plantas. Ainda que a CMU-871 tenha apresentado melhor desempenho, ambas se aproximam da faixa descrita para materiais sensíveis a moderadamente tolerantes ao Mn, uma vez que plantas com 300-500 mg kg^{-1} MS são consideradas sensíveis, entre 500-1500 mg kg^{-1} MS moderadamente tolerantes, e acima de 1500 mg kg^{-1} MS resistentes ao Mn (Skórka et al., 2023). No tratamento controle, com baixa disponibilidade de Mn no solo, observamos amarelecimento mais generalizado, especialmente na CMU-300, embora sem forte comprometimento dos demais nutrientes. Por outro lado, na CMU-871, sintomas de amarelecimento e enrugamento foram observados em 10 mg dm^{-3} (figura 6 e 7), com teor foliar aproximado de 310 mg kg^{-1} MS, enquanto na CMU-300 os sintomas mais intensos ocorreram em 20 e 40 mg dm^{-3} , quando os teores foliares atingiram cerca de 657 e 1105 mg kg^{-1} MS, respectivamente. Nesses tratamentos, os sintomas foram acompanhados por redução de biomassa, desequilíbrio nutricional e deformações foliares.

A clorose internerval e o amarelecimento podem estar associados ao desequilíbrio Fe-Mn, pois o excesso de Mn pode reduzir a disponibilidade fisiológica de Fe e afetar a síntese de clorofila e o funcionamento dos cloroplastos (Huang et al., 2016; Therby-Vale et al., 2022). O enrugamento e a redução da expansão foliar podem refletir alterações no metabolismo celular, na integridade dos tecidos e na organização da parede celular sob excesso de Mn (Millaleo et al., 2010; Fernando & Lynch, 2015). A toxidez por Mn tem sido explicada por mecanismos simplásticos, relacionados ao estresse foto-oxidativo no cloroplasto e à clorose, e por mecanismos apoplásticos, associados à oxidação de Mn e de compostos fenólicos na parede celular, geralmente vinculados à formação de necroses (Fernando & Lynch, 2015; Nazari & Hajiboland, 2026). No presente estudo, a

predominância de clorose, amarelecimento e deformações, com baixa ocorrência de necrose evidente, indica que os sintomas estiveram mais próximos de alterações nutricionais e fisiológicas do tecido foliar do que de danos necróticos localizados.

4.3 A tolerância ao Mn envolve estabilidade fotoquímica, eficiência de uso e ajuste bioquímico

A tolerância ao estresse por Mn nas cultivares de guaranazeiro, neste estudo, parece resultar da integração entre eficiência fotoquímica, eficiência de uso do nutriente e ajuste bioquímico mediado pela prolina, padrão também observado em outros estudos sob desequilíbrio manganêsico (Fühns et al., 2009; Fariduddin et al., 2015; Messant et al., 2023). Ainda que o aumento da disponibilidade de Mn tenha reduzido a eficiência de uso do elemento, alterado os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e modificado o acúmulo de prolina, essas respostas foram dependentes do genótipo. A CMU-871 manteve maior eficiência de uso de Mn, maior desempenho fotoquímico e maior acúmulo de prolina em folhas e raízes, enquanto a CMU-300 apresentou menor eficiência de uso e maior instabilidade em variáveis associadas ao fotossistema II (PSII).

Embora o Mn seja essencial ao complexo de evolução do oxigênio no PSII, no qual o cluster de Mn participa da fotólise da água e do fornecimento de elétrons ao P680 (Schmidt et al., 2016; Smythers et al., 2023), sua disponibilidade em excesso pode comprometer a estrutura dos cloroplastos, o transporte de elétrons e o desempenho fotoquímico, resultando em estresse foto-oxidativo e menor crescimento (Gururani et al., 2015; Liang et al., 2019). Esse efeito é consistente com estudos que demonstraram redução da fotossíntese líquida sob excesso de Mn em plantas superiores, associada a alterações no aparato fotossintético, incluindo danos ao PSII e restrições no transporte de elétrons (Lidon et al., 2004; Li et al., 2010; Ribera et al., 2013; Messant et al., 2023).

A eficiência quântica máxima do PSII, estimada por F_v/F_m , permaneceu, em grande parte, dentro ou próxima da faixa esperada para plantas funcionalmente ativas (figura 9E e F), geralmente entre 0,75 e 0,85, conforme descrito para folhas de plantas C_3 não estressadas adaptadas ao escuro (Björkman e Demmig, 1987; Sánchez & Quiles, 2006). Em espécies arbóreas amazônicas, valores próximos de 0,8 ao amanhecer e reduções próximas de 0,7 em horários de maior radiação também já foram relatados, indicando que pequenas oscilações em F_v/F_m podem ocorrer sem representar, necessariamente, colapso fotoquímico do PSII (Marengo et al., 2014). Ainda assim,

observamos diferença entre os genótipos: a CMU-871 manteve F_v/F_m mais elevado ao longo de grande parte do gradiente de Mn, indicando maior estabilidade funcional do PSII sem efeito significativo das concentrações (Figura 9E, F). Em contrapartida, na CMU-300 (figura 9F), o Mn influenciou significativamente o F_v/F_m , revelando maior sensibilidade do PSII à variação na disponibilidade do elemento, com melhor resposta na concentração de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$. Essa resposta diferenciada entre genótipos frente ao excesso de Mn também foi evidenciada por Ribera et al. (2013), em *Lolium perenne*, no qual o rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) apresentou redução apenas em uma das cultivares sob concentrações mais elevadas de Mn.

Os índices de desempenho PI_{abs} e PI_{total} também diferiram entre genótipos (Figura 9A e C). Na CMU-871, ambos permaneceram elevados e superiores à CMU-300 ao longo da faixa de Mn, declinando apenas em 40 mg dm^{-3} (figura 9A, B, C e D). Por outro lado, na CMU-300, os índices indicaram desempenho inferior, sem efeito significativo das concentrações isoladas, embora com tendência de maior valor em $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ (Figura 9B e D). Enquanto F_v/F_m reflete a eficiência máxima do PSII, PI_{abs} integra processos de absorção, captura e transporte de elétrons no PSII, e PI_{total} amplia essa análise ao incluir o fluxo até aceptores finais do PSI (Strasser et al., 2010; Tsimilli-Michael, 2020). A superioridade da CMU-871 em PI_{abs} e PI_{total} ao longo da ampla faixa de Mn sugere maior estabilidade do transporte de elétrons, e a redução observada em 40 mg dm^{-3} evidencia limitação fotoquímica sob estresse mais severo (Husted et al., 2009; Millaleo et al., 2013). Esses resultados corroboram Ren et al. (2025), que observaram declínios acentuados em PI_{abs} e PI_{total} sob condições de estresse, destacando que esses índices apresentam maior sensibilidade para detectar restrições no fluxo de energia e elétrons antes de reduções significativas em F_v/F_m .

Quanto à eficiência de uso de Mn (EUMn), observamos redução acentuada com o aumento da disponibilidade do elemento (figura 8A), indicando menor conversão do Mn acumulado em biomassa (Jhanji et al., 2014). Como a eficiência de uso de nutrientes expressa a capacidade da planta em converter o nutriente acumulado em massa seca (Siddiqi & Glass, 1981), esse índice pode ser utilizado como indicador fisiológico para comparar genótipos quanto ao aproveitamento dos nutrientes absorvidos (Adhikari et al., 2023; Maurya et al., 2024). Dessa forma, a queda da EUMn sob excesso de Mn sugere perda de eficiência metabólica, indicando que o Mn acumulado passou a ser menos aproveitado em processos associados ao crescimento (Pessoa et al., 2026).

Entre os genótipos, a maior EUMn da CMU-871 (Figura 8B) indica melhor capacidade de converter o Mn absorvido em biomassa, enquanto a menor EUMn da CMU-300 sugere maior limitação no aproveitamento fisiológico do elemento, associada à instabilidade fotoquímica, ao desequilíbrio nutricional e ao efeito tóxico do Mn acumulado (Li et al., 2025). Diferenças genótípicas na eficiência de uso de nutrientes são comuns e podem envolver variações na absorção, translocação, compartimentalização e utilização metabólica dos elementos (Maurya et al., 2024; Zambrosi et al., 2016). No caso do Mn, genótipos mais tolerantes tendem a manter maior eficiência fisiológica ao restringir os efeitos tóxicos do metal, preservar a homeostase nutricional e sustentar o funcionamento fotossintético, possivelmente por compartimentalização em vacúolos ou parede celular (El-Jaoual & Cox, 1998; Millaleo et al., 2010; Yang et al., 2019).

O acúmulo de prolina indicou respostas bioquímicas distintas entre raízes e folhas das cultivares sob disponibilidade crescente de Mn (Figura 10). Embora a prolina seja um aminoácido presente no metabolismo basal das plantas (Zulfiqar e Ashraf, 2023), seu acúmulo é frequentemente intensificado sob condições de estresse, participando da regulação redox, da proteção contra danos oxidativos e da estabilização de estruturas celulares (Szabados & Saviouré, 2010; Sharma et al., 2011; Rejeb et al., 2014). Nas raízes, a resposta da prolina foi modulada pelo genótipo e pela intensidade do estresse (Figura 10C, D). Na CMU-300, o maior teor de prolina na ausência de Mn (Figura 10B) sugere estresse associado à baixa disponibilidade do elemento, enquanto a redução entre 2,5 e 5,0 mg dm⁻³ coincidiu com a faixa de melhor desempenho nutricional, fotoquímico e de crescimento. O novo aumento nas maiores concentrações indica reativação da resposta bioquímica quando o Mn passou a exercer efeito tóxico. Na CMU-871, o incremento foi mais progressivo ao longo do gradiente (Figura 10B), indicando ativação gradual desse mecanismo conforme aumentou a pressão manganêsica. Esse padrão é compatível com estudos que relatam acúmulo de prolina em plantas sob estresse por metais, incluindo Mn, como resposta associada à mitigação de danos oxidativos e à manutenção do equilíbrio metabólico (Khan et al., 2000; Guan et al., 2020; Skórka et al., 2023).

Nas folhas, diferentemente do observado nas raízes, a CMU-871 manteve maiores teores de prolina, o que pode estar associado à maior estabilidade fotoquímica e ao melhor desempenho fisiológico desse genótipo (Hayat et al., 2012), ao menos até 20 mg dm⁻³. Em contraste, a CMU-300 apresentou resposta foliar mais restrita, indicando possível limitação na sustentação desse ajuste bioquímico sob estresse. O acúmulo de prolina sob deficiência ou excesso de Mn tem sido relatado em diferentes espécies, como *Zea mays*,

Phaseolus vulgaris, *Citrus volkameriana* e *Brassica juncea*, embora sua intensidade varie conforme o genótipo, o tecido avaliado e a severidade do estresse (Khan et al., 2000; Papadakis et al., 2020; Zengin, 2013; Fariduddin et al., 2015). Assim, no guaranazeiro, a manutenção de maiores teores de prolina no tecido foliar da CMU-871 parece compor, juntamente com a maior eficiência de uso de Mn e a estabilidade fotoquímica, um conjunto de ajustes associados à maior tolerância relativa ao estresse manganêsico.

4.4 A análise multivariada evidencia a separação entre genótipos sob estresse por Mn

A análise multivariada reforça a interpretação integrada das respostas ao Mn, ao evidenciar a separação das cultivares e das concentrações do elemento com base em variáveis nutricionais, fotoquímicas, bioquímicas e de crescimento (Figura 12). Essa abordagem tem sido útil para discriminar genótipos submetidos a estresses minerais, especialmente quando múltiplas respostas fisiológicas atuam de forma simultânea (Inostroza-Blancheteau et al., 2017; Ribeiro et al., 2023). As variáveis associadas à maior biomassa, área foliar, eficiência de uso de Mn e desempenho fotoquímico agruparam-se às condições de maior equilíbrio fisiológico, enquanto o maior acúmulo foliar de Mn, os sintomas visuais, a redução no acúmulo de nutrientes essenciais e o menor crescimento caracterizaram as condições de maior estresse. Embora este estudo avance na compreensão da toxidez manganêsica em guaranazeiro, futuras abordagens envolvendo compartimentalização subcelular do Mn, atividade antioxidante, expressão de transportadores metálicos e avaliações em condições de campo poderão esclarecer com maior precisão os mecanismos que sustentam a adaptação diferencial dos genótipos a solos ácidos com elevada disponibilidade de Mn.

5. CONCLUSÕES

A resposta do guaranazeiro ao estresse por Mn foi genótipo-dependente. Concentrações entre 2,5 e 5,0 mg dm⁻³ favoreceram maior equilíbrio fisiológico, enquanto níveis a partir de 20,0 mg dm⁻³ reduziram o acúmulo de nutrientes, a área foliar e a biomassa. A CMU-300 mostrou-se mais sensível ao excesso de Mn, enquanto a CMU-871 apresentou maior tolerância relativa, associada à maior eficiência de uso do nutriente, estabilidade fotoquímica, manutenção do crescimento e ativação da prolina como resposta bioquímica ao estresse.

6. REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, S.; ANURAGI, H.; CHANDRA, K.; TARTE, S. H.; DHAKA, S. R.; JATAV, H. S.; HINGONIA, K. Chapter six – molecular basis of nutrient use efficiency in plants: concepts and challenges for its improvement. In: **Sustainable plant development**. Academic Press, 2023. p. 107-151. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18675-2.00001-8>.
- ALEJANDRO, S.; HÖLLER, S.; MEIER, B.; PEITER, E. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 300, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00300>.
- ALLEN, S. E.; TERMAN, G. L.; CLEMENTS, L. B. **Greenhouse techniques for soil-plant-fertilizer research**. Muscle Shoals: National Fertilizer Development Center, 1976. 55 p.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M. & SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, 711-728, 2013. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.
- ATROCH, A. L.; NASCIMENTO FILHO, F. J. do. **Melhoramento genético do guaranazeiro: seleção clonal no período de 1996 a 2010**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2024. 19 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 59).
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- BATISTA, I. M. P. **Recomendação de calagem para alguns solos do Estado do Amazonas**. 2014. 37 f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, n. 4, p. 489-504, 1987. <https://doi.org/10.1007/BF00402983>.
- BREMNER, J. M. Nitrogen-total. In: SPARKS, D. L. (ed.). **Methods of soil analysis: part 3: chemical methods**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. p. 1085-1121. (SSSA Book Series, n. 5).
- BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. **Function of nutrients: micronutrients**. In: MARSCHNER, P. (ed.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2012. p. 191-249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

CASTAINGS, L.; CAQUOT, A.; LOUBET, S.; CURIE, C. The high-affinity metal transporters NRAMP1 and IRT1 team up to take up iron under sufficient metal provision. **Scientific Reports**, v. 6, p. 37222, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep37222>.

CLARKSON, D. T. **The uptake and translocation of manganese by plant roots**. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (ed.). *Manganese in Soils and Plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 101-111.

DONCHEVA, S. N.; POSCHENRIEDER, C.; STOYANOVA, Z.; GEORGIEVA, K.; VELICHKOVA, M.; BARCELÓ, J. Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerant maize varieties. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, n. 2-3, p. 189-197, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.11.006>.

DUNN, L. E. Lime requirement determination of soils by means of titration curves. **Soil Science**, v. 56, n. 5, p. 341-351, 1943.

DZIWORNU, A. K.; SHRESTHA, A.; MATTHUS, E.; ALI, B.; UEDA, Y.; WU, L. B.; CHAUDHARY, R. K.; KOHLI, A.; WISSEMEIER, A. H.; FREI, M. Responses of contrasting rice genotypes to excess manganese and their implications for lignin synthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 252-259, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.018>.

EL-JAOUAL, T.; COX, D. A. Manganese toxicity in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 353-386, 1998. <https://doi.org/10.1080/01904169809365409>.

FARIDUDDIN, Q.; KHAN, T. A.; HAYAT, S.; AHMAD, A. 24-epibrassinolide mitigates the adverse effects of manganese induced toxicity through improved antioxidant system and photosynthetic attributes in *Brassica juncea*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 32, p. 450-465, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4339-4>

FERNANDO, D. R.; LYNCH, J. P. Manganese phytotoxicity: new light on an old problem. **Annals of Botany**, v. 116, n. 3, p. 313-319, 2015. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv111>.

FOY, C. D. Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil. In: ADAMS, F. **Soil Acidity and Liming**, 2. ed, n. 12, USA: Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, 1984, 380 p. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr12.2ed.c2>.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, Jun. 1978. [10.1146/annurev.pp.29.060178.002455](https://doi.org/10.1146/annurev.pp.29.060178.002455).

FOY, C. D.; WEIL, R. R.; CORADETTI, C. A. Differential manganese tolerances of cotton genotypes in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, n. 4, p. 685-706, 1995. <https://doi.org/10.1080/01904169509364933>.

FÜHRS, H.; KOPKA, J.; BRAUN, H. P.; HORST, W. J. Metabolomic and proteomic analysis of manganese sensitivity and tolerance in the tropical legume cowpea (*Vigna*

unguiculata L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 117-125, 2009. <https://escholarship.org/uc/item/68v8524g>.

GOVINDJEE; KERN, J. F.; MESSINGER, J.; WHITMARSH, J. Photosystem II. In: **Encyclopedia of Life Sciences (ELS)**, p. 1-15, 2010. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000669.pub2>.

GUAN, C.; CUI, X.; LIU, H.; LI, X.; LI, M.; ZHANG, Y. Proline biosynthesis enzyme genes confer salt tolerance to switchgrass (*Panicum virgatum* L.) in cooperation with polyamines metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 46, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00046>.

GUO, J.; ZHAO, M.; YANG, S.; XUE, Y.; ZHANG, R.; HU, H.; LIU, Y. Mechanisms of manganese tolerance mediated by AhMTP9 in peanut: integrated physiological and molecular responses of roots and leaves to Mn stress. **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 1713, 2025. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07758-2>.

GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; TRAN, L. S. P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Molecular Plant**, v. 8, n. 9, p. 1304-1320, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.05.005>.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, 2012. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>.

HORIGUCHI, T. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants: IV. Effects of silicon on alleviation of manganese toxicity of rice plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 65-73, 1988. <https://doi.org/10.1080/00380768.1988.10415580>.

HUANG, Y. L.; YANG, S.; LONG, G. X.; ZHAO, Z. K.; LI, X. F.; GU, M. H. Manganese toxicity in sugarcane plantlets grown on acidic soils of southern China. **PLoS One**, v. 11, n. 3, e0148956, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148956>.

HUSTED, S.; LAURSEN, K. H.; HEBBERN, C. A.; SCHMIDT, S. B.; PEDAS, P.; HALDRUP, A.; JENSEN, P. E. Manganese deficiency leads to genotype-specific changes in fluorescence induction kinetics and state transitions. **Plant Physiology**, v. 150, n. 2, p. 825–833, 2009. <https://doi.org/10.1104/pp.108.134601>.

INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; REYES-DÍAZ, M.; BERRÍOS, G.; RODRIGUES-SALVADOR, A.; NESI, A. N.; DEPPE, M.; DEMANET, R.; RENGEL, Z.; ALBERDI, M. Physiological and biochemical responses to manganese toxicity in ryegrass (*Lolium perenne* L.) genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 113, p. 89-97, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.020>.

JHANJI, S.; SADANA, U. S.; SHANKAR, A.; SHUKLA, A. K. Manganese influx and its utilization efficiency in wheat. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 52, n. 6, p. 650-657, 2014.

KHABAZ-SABERI, H. et al. Variation of tolerance to manganese toxicity in Australian hexaploid wheat. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 173, n. 1, p. 103-112, 2010. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900063>.

KHAN, A. A.; McNEILLY, T.; COLLINS, J. C. Accumulation of amino acids, proline, and carbohydrates in response to aluminum and manganese stress in maize. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 9, p. 1303-1314, 2000. <https://doi.org/10.1080/01904160009382101>.

LAVRES JUNIOR, J.; REIS, A. R.; ROSSI, M. L.; CABRAL, C. P.; NOGUEIRA, N. D. L.; MALAVOLTA, E. Changes in the ultrastructure of soybean cultivars in response to manganese supply in solution culture. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 3, p. 287-294, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300006>.

LEI, Y.; KORPELAINEN, H.; LI, C. Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. **Chemosphere**, v. 68, p. 686-694, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.066>.

LEVENE, H. Robust Tests for the equality of variance. In: Olkin, I(Ed.) **Contributions to Probability and Statistics**, Palo Alto, California. **Stanford University Press**, p.278–292, 1960.

LI, F.; YAO, Y.; MA, J.; WU, Z.; ZHENG, D.; XUE, Y.; LIU, Y. Combined metabolomic and transcriptomic analysis to reveal the response of rice to Mn toxicity stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 289, 117454, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117454>.

LI, J.; JIA, Y.; DONG, R.; HUANG, R.; LIU, P.; LI, X.; WANG, Z.; LIU, G.; CHEN, Z. Advances in the mechanisms of plant tolerance to manganese toxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, p. 5096, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20205096>.

LI, Q.; CHEN, L. S.; JIANG, H. X.; TANG, N.; SHARMA, P.; PENG, H. X.; ZHENG, J. L.; ZHOU, Y. H. 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**, v. 10, p. 42, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-42>.

LIANG, H. Z.; ZHU, F.; WANG, R. J.; HUANG, X. H.; CHU, J. J. Photosystem II of *Ligustrum lucidum* in response to different levels of manganese exposure. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 12568, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48735-8>.

LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G.; RAMALHO, J. C. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 11, p. 1235-1244, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.02.003>.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MARENCO, R. A.; ANTEZANA-VERA, S. A.; GOUVÊA, P. R. D. S.; CAMARGO, M. A. B.; OLIVEIRA, M. F. D.; SANTOS, J. K. D. S. Fisiologia de espécies florestais da Amazônia: fotossíntese, respiração e relações hídricas. **Revista Ceres**, v. 61, suplemento, p. 786-799, 2014. <https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000004>.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995.

MAURYA, J.; SINGH, R. K.; PRASAD, M. Improving nutrient use efficiency (NtUE) in crops: an overview. **Plant Physiology Reports**, v. 29, n. 4, p. 786-792, 2024. <https://doi.org/10.1007/s40502-024-00823-6>.

MESSANT, M.; HANI, U.; HENNEBELLE, T.; GUÉRARD, F.; GAKIÈRE, B.; GALL, A.; THOMINE, S.; KRIEGER-LISZKAY, A. Manganese concentration affects chloroplast structure and the photosynthetic apparatus in *Marchantia polymorpha*. **Plant Physiology**, v. 191, n. 1, p. 356-369, 2023. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad052>.

MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; ALBERDI, M.; IVANOV, A. G.; KROL, M.; HÜNER, N. P. A. Excess manganese differentially inhibits photosystem I versus II in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 343-354, 2013. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers339>.

MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; IVANOV, A. G.; MORA, M. L.; ALBERDI, M.; MENA, C.; GALLARDO, J.; GONZÁLEZ-VILLARREAL, R.; KOPRIVOVA, A.; KOPRIVA, S.; KRAUSE, G. H. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 470-481, 2010. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000200008>.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K. Soil chemical attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 40, n. 17-18, p. 2912-2925, 2009. <https://doi.org/10.1080/00103620903175371>.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; AQUINO, G. S. Iron and manganese effect on soil chemical properties, yield components, and nutritional status of soybean. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 49, n. 15, p. 1844-1854, 2018. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1475564>.

MUKHOPADHYAY, J.; SHARMA, A. Manganese in cell metabolism of higher plants. **The Botanical Review**, v. 57, n. 2, p. 117-149, 1991. <https://doi.org/10.1007/BF02858767>.

NAZARI, F.; HAJIBOLAND, R. Manganese toxicity tolerance in *Lamium album* and *Mentha aquatica*, two Lamiaceae species adapted to acidic soils. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 45, p. 1442-1461, 2026. <https://doi.org/10.1007/s00344-025-11023-6>.

PAPADAKIS, I. E.; CHATZISTATHIS, T.; GIANNAKOULA, A.; SOTIROPOULOS, T.; ANTONOPOULOU, C.; THERIOS, I. Effects of excess manganese on growth, mineral nutrition, carbohydrates, malondialdehyde, hydrogen peroxide and proline of citrus plants. **Metal toxicity in higher plants**. p. 237-252, 2020.

PESSOA, C. C.; LUÍS, I. C.; DACCAK, D. F.; LEGOINHA, P. A.; RAMALHO, J. C.; LIDON, F. C.; SILVA, M. M. Mn's Key Roles in Plant Ecophysiology—A Comprehensive Review for Unstressed and Stress Conditions. **Agronomy**, v. 16, n. 7, p. 709, 2026. <https://doi.org/10.3390/agronomy16070709>.

PITTMAN, J. K. Managing manganese: molecular mechanisms of transport and homeostasis. **New Phytologist**, v. 167, p. 733-742, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01453.x>.

REN, J.; GUO, P.; ZHAO, X. et al. Differential photosynthetic responses to drought stress in peanut varieties: insights from transcriptome profiling and JIP-Test analysis. **BMC Plant Biology**, v. 25, p. 957, 2025. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06984-y>.

REJEB, K. B.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 80, p. 278-284, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.007>.

RIBEIRO, M. D. O.; ABREU, C. B.; PINHO, C. S.; RIBEIRO, L. D. O.; NETO, A. D. D. A.; TEIXEIRA, L. S.; DIAS, F. D. S. Application of two-and multiway chemometric strategies for describing elementomic changes in pepper plants exposed to cadmium stress by multielement determination. **Chemosphere**, v. 340, p. 139831, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139831>.

RIBERA, A. E.; REYES-DÍAZ, M. M.; ALBERDI, M. R.; ALVAREZ-CORTEZ, D. A.; RENGEL, Z.; MORA, M. D. L. L. Photosynthetic impairment caused by manganese toxicity and associated antioxidative responses in perennial ryegrass. **Crop & Pasture Science**, v. 64, n. 7, p. 696-707, 2013. <https://doi.org/10.1071/CP13161>.

ROSADO, Sulianne Idalior Paião. **Sensibilidade do cedro ao estresse por alumínio e manganês**. 2021. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

SANTOS, E. F.; ZANCHIM, B. R.; ANDRADE, C. C.; LAVRES, J.; CAMPOS, M.; REIS, A. R. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 113, p. 6-19, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.022>.

SÁNCHEZ, J. F.; QUILES, M. J. Studying photosynthesis by measuring fluorescence. **Journal of Biological Education**, v. 41, n. 1, p. 34-37, 2006. <https://doi.org/10.1080/00219266.2006.9656055>.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análise química de plantas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1974. 56 p.

SCHIMPL, F. C.; SILVA, J. F.; GONÇALVES, J. F. C.; MAZZAFERA, P. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 14-31, out. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.023>.

SCHMIDT, S. B.; JENSEN, P. E.; HUSTED, S. Manganese deficiency in plants: the impact on photosystem II. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 7, p. 622-632, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.03.001>.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591-609, 1965. <https://doi.org/10.2307/2333709>.

SHEN, J. R. The structure of photosystem II and the mechanism of water oxidation in photosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 23-48, 2015. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120129>.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, p. 289-302, 1981. <https://doi.org/10.1080/01904168109362919>.

SKÓRKA, M.; SIEPRAWKA, A.; TELK, A. The Implication of Manganese Surplus on Plant Cell Homeostasis: A Review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 1327–1341, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10637-x>.

SMYTHERS, A. L.; CRISLIP, J. R.; SLONE, D. R. et al. Excess manganese increases photosynthetic activity via enhanced reducing center and antenna plasticity in *Chlorella vulgaris*. **Scientific Reports**, v. 13, p. 11301, 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35895-x>.

SOIL SURVEY STAFF. **Soil taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys**. 2. ed. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, 1999. (Agriculture Handbook, 436).

SRIVASTAVA, A.; STRASSER, R. J.; GOVINDJEE. SRIVASTAVA, A.; STRASSER, R. J.; GOVINDJEE. Polyphasic rise of chlorophyll a fluorescence in herbicide-resistant D1 mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Photosynthesis Research**, v. 43, p. 131-141, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00042970>.

STOYANOVA, Z.; POSCHENRIEDER, C.; TZVETKOVA, N.; DONCHEVA, S. Characterization of the tolerance to excess manganese in four maize varieties. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 55, n. 6, p. 747-753, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00416.x>.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; QIANG, S.; GOLTSEV, V. 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 Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1313-1326, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.03.008>.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89-97, 2010.

SHARMA, S.; VILLAMOR, J. G.; VERSLUES, P. E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. **Plant Physiology**, v. 157, n. 1, p. 292-304, 2011. <https://doi.org/10.1104/pp.111.183210>.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. (Eds.). **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. revista e ampliada. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 573 p.

THERBY-VALE, R.; LACOMBE, B.; RHEE, S. Y.; NUSSAUME, L.; ROUACHED, H. Mineral nutrient signaling controls photosynthesis: focus on iron deficiency-induced chlorosis. **Trends in Plant Science**, v. 27, n. 5, p. 502-509, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.12.004>.

TSIMILLI-MICHAEL, M. Revisiting JIP-test: an educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. **Photosynthetica**, v. 58, p. 275-292, 2020. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.150>.

VERT, G.; GROTZ, N.; DÉDALDÉCHAMP, F.; GAYMARD, F.; GUERINOT, M. L.; BRIAT, J.-F.; CURIE, C. IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. **Plant Cell**, v. 14, p. 1223-1233, 2002. <https://doi.org/10.1105/tpc.001040>.

WANG, Y.; LI, J.; PAN, Y.; CHEN, J.; LIU, Y. Metabolic responses to manganese toxicity in soybean roots and leaves. **Plants**, v. 12, n. 20, 3615, out. 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12203615>.

WISSEMEIER, A. H.; HORST, W. J. Effect of light intensity on manganese toxicity symptoms and callose formation in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and Soil**, v. 143, n. 2, p. 299-309, 1992. <https://doi.org/10.1007/BF00007886>.

WU, R.; YAO, F.; LI, X.; SHI, C.; ZANG, X.; SHU, X.; SUN, X.; ZHANG, W. Manganese pollution and its remediation: a review of biological removal and promising combination strategies. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, 2411, dez. 2022. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122411>.

YANG, S.; YI, K.; CHANG, M. M. et al. Sequestration of Mn into the cell wall contributes to Mn tolerance in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Plant and Soil**, v. 436, p. 475–487, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03937-x>.

ZAMBROSI, F. C. B.; MESQUITA, G. L.; MARCHIORI, P. E. R.; TANAKA, F. A. O.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Anatomical and physiological bases of sugarcane tolerance to manganese toxicity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 132, p. 100-112, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.08.011>.

ZENGIN, F. Biochemical and physiological effect of excess manganese (Mn) in bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: **Biological Sciences**, v. 83, n. 4, p. 651-657, 2013. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0171-0>.

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 4629-4651, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10839-3>

APÊNDICES

APÊNDICE A - DADOS COMPLEMENTARES DA ESPESSURA DOS TECIDOS RADICULARES (CAPÍTULO 1)

Espessura média do xilema e floema radiculares sob diferentes tratamentos, com intervalo de confiança de 95% (IC95%) e diferença em relação ao controle (Δ).

Tratamento	Xilema (μm) – média [IC95%]	Δ vs Controle (μm)	Floema (μm) – média [IC95%]	Δ vs Controle (μm)
Controle	2.076 [1.924 – 2.228]	–	660 [559 – 762]	–
T1	2.305 [1.898 – 2.590]	+ 229	565 [491 – 651]	- 95
T2	2.665 [2.431 – 2.900]	+ 589	572 [512 – 608]	- 88
T3	2.549 [2.206 – 2.892]	+ 473	413 [366 – 456]	- 247
T4	2.125 [1.861 – 2.390]	+ 49	653 [557 – 730]	- 80

Nota: Δ = valor do tratamento – valor do controle

APÊNDICE B – DADOS COMPLEMENTARES DA ESPESSURA DOS TECIDOS FOLIARES (CAPÍTULO 1)

Espessura média do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso sob diferentes tratamentos, com intervalo de confiança de 95% (IC95%) e diferença em relação ao controle (Δ).

Tratamento	Parênquima paliçádico (μm) – média [IC95%]	Δ vs Controle (μm)	Parênquima esponjoso (μm) – média [IC95%]	Δ vs Controle (μm)
Controle	25,8 [24,74 – 26,94]	–	26,2 [24,67 – 28,21]	–
T1	28,4 [26,55 – 29,96]	+ 2,6	30,7 [28,35 – 33,08]	+ 4,5
T2	23,1 [17,34 – 27,12]	- 2,7	29,3 [23,72 – 33,36]	+ 3,1

T3	20,1 [14,8 – 23,82]	- 5,7	21,9 [14,98 – 26,09]	- 4,3
T4	24,3 [20,75 – 27,41]	- 1,5	35,3 [32,51 – 38,04]	+ 9,1

Nota: Δ = valor do tratamento – valor do controle