

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS - AGRONOMIA

INDICADORES MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS  
DA TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE FEIJÃO À  
COMBINAÇÃO DE ESTRESSES POR TEMPERATURA  
ELEVADA E ALUMÍNIO

Autora: Camila Vilela Vasconcelos  
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Rio Verde - GO  
fevereiro - 2019

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS - AGRONOMIA

INDICADORES MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS  
DA TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE FEIJÃO À  
COMBINAÇÃO DE ESTRESSES POR TEMPERATURA  
ELEVADA E ALUMÍNIO

Autora: Camila Vilela Vasconcelos  
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Área de concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

Rio Verde - GO  
fevereiro - 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

VV331i Vasconcelos, Camila Vilela  
Indicadores morfofisiológicos e bioquímicos da  
tolerância de cultivares de feijão à combinação de  
estresses por temperatura elevada e alumínio / Camila  
Vilela Vasconcelos; orientador DSc. Alan Carlos Costa  
. -- Rio Verde, 2019.  
83 p.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) --  
Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. Fitotoxicidade. 2. Ondas de calor. 3. Solo  
ácido. 4. Tolerância. I. , DSc. Alan Carlos Costa,  
orient. II. Título.


INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS-AGRONOMIA


INDICADORES MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA  
TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE FEIJÃO À COMBINAÇÃO  
DE ESTRESSES POR TEMPERATURA ELEVADA E ALUMÍNIO


Autora: Camila Vilela Vasconcelos  
Orientador: Dr. Alan Carlos Costa


TITULAÇÃO: Doutora em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração  
em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado


APROVADA em 28 de fevereiro de 2019.

  
Dra. Caroline Müller  
Avaliadora externa  
Pesquisadora

  
Prof. Dr. Gustavo Castoldi  
Avaliador interno  
IF Goiano – Campus Rio Verde

  
Dr. Adinan Alves Silva  
Avaliador interno  
IF Goiano – Campus Rio Verde

  
Prof. Dr. Marconi Batista Teixeira  
Avaliador interno  
IF Goiano – Campus Rio Verde

  
Prof. Dr. Alan Carlos Costa  
Presidente da banca  
IF Goiano – Campus Rio Verde

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu o dom da vida e me abençoa todos os dias com o seu amor infinito.

Sou grata aos meus pais Almeri e José, que me apoiaram muito com palavras de incentivo durante toda a minha vida acadêmica.

Ao meu esposo Eduardo, por toda paciência, companheirismo e dedicação nos momentos que mais precisei.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, pelo privilégio de poder completar a realização deste doutorado.

A FAPEG, pela bolsa de pesquisa e auxílio financeiro para realização do trabalho.

Ao professor Dr. Alan Carlos Costa, pela orientação, paciência e, oportunidade para que pudesse receber sua orientação e tivesse crescimento na área pessoal e profissional.

Aos coorientadores Drs. Adinan Silva, Caroline Müller e Gustavo Castoldi, pela orientação, pelas valiosas sugestões e contribuição para o desenvolvimento e finalização deste trabalho.

A amiga Andréia Mendes, pelo apoio durante a realização de disciplinas e seminários.

Aos integrantes e Amigos do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, que de maneira direta e indireta tiveram participação no sucesso deste trabalho, em especial Luciana Minervina, Roberto Vital, Daniela Ataídes, Ariana Bertola e Priscila Ferreira.

Aos integrantes dos Laboratórios de Química Agrícola e Anatomia Vegetal, pela oportunidade de realização das análises. Em especial agradeço ao Thomas Cavalcante,

Kássia Barbosa e aos irmãos Arthur e Douglas Rodrigues, pela presteza na realização dos trabalhos.

Aos meus professores do programa de doutorado em ciências agrárias – agronomia, que contribuíram direta e indiretamente para minha formação profissional.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

Camila Vilela Vasconcelos, natural de Jataí – Goiás, filha de Almeri Vilela Vasconcelos e José Antônio Vilela. Sua formação iniciou em 2005 no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Goiás-Campus Jataí. Em 2011 iniciou a Especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho pela Universidade Federal de Goiás-Goiânia. Em 2013, iniciou a pós-graduação *Strictu Sensu*, Mestrado em Produção Vegetal, pela Universidade Estadual de Goiás-Campus Ipameri. Em 2015 iniciou o Doutorado em Ciências Agrárias pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano-Campus Rio Verde.

## ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE APÊNDICES.....	x
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	xii
RESUMO GERAL .....	xiv
ABSTRACT.....	ii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	4
OBJETIVO GERAL .....	7
CAPÍTULO I .....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
2.1. Condições Experimentais .....	13
2.2. Trocas gasosas .....	14
2.3. Fluorescência da Clorofila <i>a</i> .....	14
2.4. Concentração de pigmentos cloroplastídicos.....	15
2.5 Peroxidação de lipídios e atividade de enzimas antioxidantes .....	15
2.6. Características visuais.....	17
2.7. Análises estatísticas .....	17
3. RESULTADOS .....	17
3.1 Trocas gasosas .....	17
3.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	18
3.3 Pigmentos fotossintéticos .....	19
3.4 Taxa de liberação de eletrólitos e atividade das enzimas antioxidantes .....	22
3.5 Sintomas visuais .....	23



4. DISCUSSÃO .....	25
5. CONCLUSÕES .....	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
7. APÊNDICE.....	35
CAPÍTULO II.....	38
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
1. INTRODUÇÃO .....	41
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	42
2.1 Cultivo das plantas e Imposição dos tratamentos .....	42
2.2 Determinação do conteúdo de Al e nutrientes .....	43
2.3 Análises em microscopia de luz.....	43
2.4 Análises morfológicas.....	44
2.5 Análises estatísticas .....	44
3. RESULTADOS .....	45
3.1 Conteúdo de alumínio (Al) .....	45
3.2 Conteúdo de macronutrientes .....	45
3.3 Conteúdo de micronutrientes .....	47
3.4 Anatomia e micromorfometria foliar .....	49
3.5 Características biométricas .....	53
4. DISCUSSÃO .....	56
5. CONCLUSÕES .....	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	58
7. APÊNDICE.....	62
CONCLUSÃO GERAL.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

### Capítulo I

Figura 1. Taxa fotossintética (A, A), condutância estomática ( $g_s$ , B), taxa transpiratória (E, C) e razão entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub> ( $C_i/C_a$ , D) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **18**

Figura 2. Rendimento quântico efetivo do FSII (Y<sub>II</sub>, A), *quenching* fotoquímico (qP, B), taxa de transporte de elétrons (ETR, C) e coeficiente de extinção não fotoquímica da fluorescência (NPQ, D) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **19**

Figura 3. Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e carotenoides (C) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **21**

Figura 4. Taxa de liberação de eletrólitos (TLE) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de

alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **22**

Figura 5. Atividade das enzimas antioxidantes: Dismutase do superóxido (SOD, A), Catalase (CAT, B), Peroxidase do ascorbato (APX, C) e Peroxidase (POX, D) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **23**

Figura 6. Fenótipo da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). ..... **24**

## Capítulo II

Figura 1. Conteúdo de alumínio (Al) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **45**

Figura 2. Conteúdo dos macronutrientes nitrogênio (N, A), fósforo (P, B), potássio (K, C), cálcio (Ca, D), magnésio (Mg, E) e enxofre (S, F) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **47**

Figura 3. Conteúdo dos micronutrientes cobre (Cu, A), ferro (Fe, B), zinco (Zn, C), manganês (Mg, D), e boro (B, E) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **49**

Figura 4. Anatomia foliar da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139. Cultivares Tepary (A, B), BRS Estilo (C, D), Campos Gerais (E, F) e IPR 139 (G, H) expostas aos tratamentos referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (A, C, E, G) e alto

teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (B, D, F, H). Asterisco indica colabamento celular e setas indicam ocorrência de células anormais. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barra de escala 200 µm..... **51**

Figura 5. Anatomia foliar da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139. Cultivares Tepary (A, B), BRS Estilo (C, D), Campos Gerais (E, F) e IPR 139 (G, H) expostas aos tratamentos alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (A, C, E, G) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (B, D, F, H). (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barra de escala 200 µm..... **52**

Figura 6. Espessura da epiderme adaxial (A), espessura da epiderme abaxial (B), espessura do parênquima paliçádico (C), espessura do parênquima esponjoso (D) e espessura do mesofilo (E) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **53**

Figura 7. Altura das plantas (AP, A), número de trifólios (NT, B), massa seca das folhas (MSF, C), massa seca do caule (MSC, D), comprimento de raiz (CR, E), volume de raiz (VR, F), massa seca da raiz (MSR, G) e massa seca total (MST, H) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05). ..... **55**

## ÍNDICE DE APÊNDICES

Página

### Capítulo I

Tabela 1. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da taxa fotossintética ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), rendimento quântico efetivo do FSII ( $Y_{II}$ ), *quenching* fotoquímico ( $qP$ ) e taxa de transporte de elétrons (ETR) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ). Barras representam médias  $\pm$  EP ( $n = 5$ ). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão ( $P < 0,05$ )..... **35**

Tabela 2. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial dos teores de clorofila  $a$ , clorofila  $b$  e carotenoides nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ). Barras representam médias  $\pm$  EP ( $n = 5$ ). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão ( $P < 0,05$ )..... **36**

Tabela 3. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da taxa de liberação de eletrólitos (TLE), Dismutase do superóxido (SOD), Catalase (CAT), Peroxidase do ascorbato (APX) e Peroxidase (POX) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3} \text{Al}$ ). Barras representam médias  $\pm$  EP ( $n = 5$ ). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão ( $P < 0,05$ ). ..... **37**

## Capítulo II

Tabela 1. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial do conteúdo dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e micronutrientes cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mg, D), e boro (B, E) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05). ..... **62**

Tabela 2. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da espessura da epiderme adaxial (EpAd), espessura da epiderme abaxial (EpAb), espessura do parênquima paliçádico (PP), espessura do parênquima esponjoso (PE) e espessura do mesofilo (E) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05). ..... **63**

Tabela 3. Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da altura das plantas (AP), número de trifólios (NT), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), comprimento de raiz (CR), volume de raiz (VR) e massa seca da raiz (MSR) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05). ..... **64**

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES

AbEp	Epiderme abaxial	
AdEp	Epiderme adaxial	
APX	Peroxidase do ascorbato	
A	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
AT+Al	Alta temperatura + alumínio	
AP	Altura da planta	cm
CAT	Catalase	
CR	Comprimento de raiz	cm
$C_i$	Concentração interna de $\text{CO}_2$	
$C_i/C_a$	Relação entre concentração interna e externa de $\text{CO}_2$	
$Cl_a$	Clorofila <i>a</i>	$\mu\text{g cm}^{-2}$
$Cl_b$	Clorofila <i>b</i>	$\mu\text{g cm}^{-2}$
$Cl_t$	Clorofila total	$\mu\text{g cm}^{-2}$
CL	Condutividade livre	$\mu\text{S cm}^{-1}$
CT	Condutividade total	$\mu\text{S cm}^{-1}$
<i>E</i>	Taxa transpiratória	$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
ETR	Taxa de transporte de elétrons	
GR	Redutase da glutatona	
$g_s$	Condutância estomática	$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrogênio	
MS	Massa seca	$\text{g planta}^{-1}$
MSC	Massa seca do caule	$\text{g planta}^{-1}$
MSF	Massa seca da folha	$\text{g planta}^{-1}$
NT	Número de trifólios	
NPQ	Dissipação não fotoquímica regulada	
POX	Peroxidases totais	
PP	Parênquima paliçádico	
qP	Coefficiente de extinção fotoquímico	
SP	Parênquima esponjoso	
SOD	Dismutase do superóxido	

TLE	Taxa de liberação de eletrólitos	%
VR	Volume de raiz	mL
Y <sub>II</sub>	Rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no FSII	



## RESUMO GERAL

VASCONCELOS, C.V. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2019. **Indicadores morfofisiológicos e bioquímicos da tolerância de cultivares de feijão a combinação de estresses por temperatura elevada e alumínio.** Orientador: DSc. Alan Carlos Costa. Coorientadores: DSc. Adinan Alves Silva, DSc. Caroline Müller e DSc. Gustavo Castoldi.

O aumento da temperatura em função das instabilidades climáticas, potencializa a exposição das plantas a episódios cada vez mais intensos e duradouros de estresse térmico, como ondas de calor, ocasionando impacto negativo no metabolismo vegetal. Adicionalmente, entre 30 a 40% das terras potencialmente agricultáveis no mundo são ácidas e conseqüentemente, possuem altas concentrações de alumínio (Al). O efeito sinérgico ocasionado por esses estresses pode exacerbar a ocorrência de danos quando comparados com os estresses individuais, podendo levar à morte da planta em condições extremas. Nesse cenário, a produtividade de plantas alimentícias pode ser severamente afetada. O feijão é uma cultura economicamente importante em várias regiões do mundo, particularmente no Brasil, onde faz parte da alimentação diária da maioria da população. Objetivou-se com este estudo selecionar características fisiológicas, bioquímicas e morfoanatômicas com potencial para serem utilizadas como indicadoras da tolerância aos estresses por alta temperatura (estresse térmico-AT), alto teor de alumínio (Al) e a combinação dos estresses (AT+Al) e, ainda, caracterizar a tolerância diferencial de quatro genótipos. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. Foi utilizada uma cultivar de *Phaseolus acutifolius* (feijão Tepary) e três cultivares de *Phaseolus vulgaris* (BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139); duas temperaturas (25°C e 40°C) e 2 concentrações de Al (0,05

cmol/dm<sup>3</sup> e 1,14 cmol/dm<sup>3</sup> de Al). O solo, naturalmente com alto teor de Al, foi incubado com hidróxido de cálcio, para os tratamentos com ausência de Al. Os tratamentos impostos desencadearam alterações na fisiologia, bioquímica e anatomia das cultivares avaliadas. Os estresses por Al e AT+Al desencadearam efeitos mais severos, como reduções nas trocas gasosas, eficiência fotoquímica, pigmentos fotossintéticos e conteúdo de nutrientes, em relação à imposição do estresse térmico isolado (AT). As cultivares BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao estresse combinado (AT+Al), em relação ao tratamento Al.

**PALAVRAS-CHAVES:** estresse térmico, fitotoxicidade, ondas de calor, *Phaseolus sp.*, solo ácido, tolerância.

## ABSTRACT

VASCONCELOS, C.V. Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, February 2019. **Morphophysiological and biochemical indicators related to the tolerance of bean cultivars to the stress combination of high temperature and aluminum.** Advisor: DSc. Alan Carlos Costa. Co-advisors: DSc. Adinan Silva, DSc. Caroline Müller and DSc. Gustavo Castoldi.

The temperature increase due to the climatic instabilities, increases the plants exposure to intense and long-lasting episodes of thermal stress, such as heat waves, causing a negative impact on plant metabolism. Additionally, between 30 and 40% of the world's potentially arable land is acidic and consequently has high aluminum (Al) concentrations. The synergistic effect caused by these stresses may exacerbate the occurrence of damages when compared to the individual stresses, which can lead to the plant death under extreme conditions. In this scenario, the food plants productivity can be severely affected. Bean is an economically important crop in several regions of the world, including Brazil, where it is part of the daily diet of the population majority. The objective of this study was to select morphological, physiological and biochemical characteristics with potential to be used as indicators of stress tolerance by high temperature (T-thermal stress), high aluminum content (Al) and the stresses combination (AT+Al) and, also, characterize the differential tolerance of four genotypes. The experiment was carried out in a growth chamber in Ecophysiology and Vegetable Productivity Laboratory of the Goiano Federal Institute - Rio Verde Campus. A cultivar of *Phaseolus acutifolius* (Tepary bean) and three cultivars of *Phaseolus vulgaris* (common bean, cultivars BRS Estilo, Campos Gerais and IPR 139) were used; as well as two temperatures (25°C and 40°C); and two AL concentrations (0.05 and

1.14 cmol<sub>e</sub>/dm<sup>3</sup>). The soil, naturally with high Al content, was incubated with calcium hydroxide for treatments without Al. The treatments imposed triggered changes in the physiology, biochemistry and anatomy of the evaluated cultivars. Al and AT + Al stresses triggered more severe effects, such as reductions in gas exchange, photochemical efficiency, photosynthetic pigments and nutrient content, in relation to the imposition of isolated thermal stress (AT). The BRS Estilo and IPR 139 cultivars were more sensitive to combined stress (AT+Al), compared to Al treatment.

**KEY-WORDS:** thermal stress, phytotoxicity, heat waves, *Phaseolus* sp., acid soil, tolerance.

## INTRODUÇÃO GERAL

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a leguminosa alimentar mais importante do mundo, por constituir uma fonte rica em proteínas, carboidratos complexos, minerais e vitaminas (Mojica et al., 2015; Parsa et al., 2018). É uma cultura propícia para pequenos agricultores pela sua capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio e ciclo de crescimento relativamente curto, de cerca de três meses (Diaz et al., 2018). No entanto, altas temperaturas aliadas com a acidez do solo e, conseqüentemente, altas concentrações de alumínio (Al), são fatores limitantes para o incremento da produtividade desta cultura. O Quinto Relatório de Avaliação (5AR) do “Intergovernmental Panel on Climate Change” (IPCC) prognosticou aumento na temperatura média de 2,6-4,8°C em 2081-2100 em relação a 1986-2005 (IPCC, 2014). Adicionalmente, sabe-se que o Al é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre e em solos ácidos (pH < 5,0) é hidrolisado em sua forma fitotóxica (Al<sup>3+</sup>) (Silva et al., 2018). Cerca de 30-45% da terra livre de gelo do mundo é composta de solos ácidos. No Brasil, por exemplo, são mais de 500 milhões de hectares, compreendendo a cerca de dois terços da terra do país (Vitorello et al., 2005).

As mudanças climáticas podem reduzir drasticamente a produção das culturas em escala global. As oscilações diárias e sazonais na temperatura vêm ocorrendo com maior frequência nas últimas décadas, desencadeando o aumento de ondas de calor. As ondas de calor são caracterizadas por temperaturas máximas em torno de 5°C acima do valor médio diário observado nos anos anteriores, e com duração de pelo menos seis dias (IMP, 2019). No Brasil, extremos climáticos vêm se intensificando em diversas regiões (Bitencourt et al., 2016). No Centro Oeste, por exemplo, a temperatura média

usual de 32°C a 36°C no período de primavera-verão, já ultrapassou, não raras exceções, 42°C (CEPTEC, 2018).

Considerando que os modelos climáticos preveem aumento na frequência e intensidade das ondas de calor (Lavania et al., 2015), é importante elucidar os mecanismos de tolerância das culturas em relação a esses extremos climáticos para garantir a rentabilidade agrícola e a segurança alimentar. A produtividade pode ser facilmente afetada uma vez que as altas temperaturas desencadeiam diversos processos fisiológicos deletérios, como a desnaturação de proteínas, aumento da fluidez de membranas e nível de espécies reativas de oxigênio (EROs), inativação de enzimas dos cloroplastos e mitocôndrias, bem como declínios do transporte de elétrons mediado pelo fotossistema II (FSII) e da atividade fotossintética (Abdelrahman et al., 2017). A redução da abertura estomática, associada com a diminuição da assimilação de CO<sub>2</sub> e da taxa transpiratória e, conseqüentemente, aumento da temperatura foliar, são respostas comuns de plantas submetidas ao estresse térmico (Goraya et al., 2017). Em casos extremos, altas temperaturas podem acarretar a morte do vegetal mediante danos severos nas células (Lavania et al., 2015). Dentre os mecanismos de tolerância a altas temperaturas, destacam-se o caráter “*stay-green*” (senescência retardada) (Abdelrahman et al., 2017), a termoestabilidade de membranas (Souza et al., 2011) e aumento da expressão de proteínas de choque térmico (Goraya et al., 2017).

Nas plantas, o Al em concentrações tóxicas pode resultar na redução da respiração radicular, interferir na mitose, comprometer a estrutura e função de membranas celulares, alterar a absorção e transporte de nutrientes como o cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), potássio (K) e ferro (Fe) (Singh et al., 2017), aumentar a resistência estomática e causar danos no aparato fotossintético (Silva et al., 2018). Em resposta a toxicidade por Al, as plantas desenvolveram mecanismos de tolerância, os quais são classificados como internos e externos. Nos mecanismos externos, também conhecidos como mecanismos de prevenção, ocorre a exsudação de ácidos orgânicos como o citrato, malato e oxalato via ápice da raiz, a fim de formar complexos estáveis e não fitotóxicos ao quelar o Al na rizosfera. Por outro lado, nos mecanismos internos, a detoxificação dos íons Al ocorre no interior da célula pela formação de quelatos com os ácidos orgânicos ou outros ligantes, com o subsequente sequestro no vacúolo de raízes e/ou folhas (Singh et al., 2017).

A toxicidade por Al e as altas temperaturas podem, ainda, acarretar no aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais oxidam componentes

celulares como lipídeos, proteínas, e ácidos nucleicos e, em casos extremos, pode resultar na morte do vegetal (Goraya et al., 2018; Guo et al., 2018). As plantas possuem vários mecanismos enzimáticos e não enzimáticos envolvidos na remoção das EROs. Dentre os mecanismos antioxidantes não enzimáticos, destacam-se o ascorbato (ASA) e a glutatona (GSH); e nos mecanismos enzimáticos atuam a catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), dismutase do superóxido (SOD) e peroxidase (POD) (Caverzan et al., 2016). Vários autores reportaram o aumento na atividade de enzimas antioxidantes em plantas consideradas tolerantes à toxicidade do Al (Guo et al., 2018; Liu et al., 2018) e ao estresse térmico (Silva et al., 2017; Soengas et al., 2018). As atividades das enzimas SOD, APX, CAT e POD foram significativamente aumentadas em plantas de *Triticum aestivum* sob estresse por Al (Liu et al., 2018). Em plantas de *Jatropha curcas*, altas temperaturas induziram um eficiente sistema de eliminação de EROs nos tecidos fotossintéticos, por meio da atuação das enzimas SOD, APX e CAT (Silva et al., 2017).

Os efeitos combinados de Al e estresse térmico, de modo geral, são condições em que as plantas estão expostas em seus ambientes de cultivo. Ressalta-se que os efeitos sinérgicos entre os estresses térmico e por Al podem aumentar a intensidade dos danos metabólicos e fisiológicos comparado aos estresses isolados e, conseqüentemente, afetar de forma drástica o rendimento final das culturas. Muitos trabalhos têm focado nos estresses térmico e por Al separadamente (Silva et al., 2017; Traub et al., 2018; Liu et al., 2018; Guo et al., 2018), no entanto, até o momento, não há trabalhos sobre a dupla tolerância de plantas aos estresses térmico e por Al envolvendo a caracterização das respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, bem como os mecanismos relacionados à defesa das plantas. Essas respostas são aspectos fundamentais para a distinção e caracterização de cultivares tolerantes às condições de estresse. Essas informações contribuirão para o manejo da cultura do feijão e para programas de melhoramento genético que visam a seleção de cultivares mais tolerantes aos estresses combinados. Neste estudo foi avaliada a hipótese de que episódios de ondas de calor exacerbam os efeitos deletérios do Al em plantas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELRAHMAN, M.; EL-SAYED, M.; JOGAIAH, S.; BURRITT, D.J.; TRAN, L.-S.P. The “STAY-GREEN” trait and phytohormone signaling networks in plants under heat stress. **Plant Cell Rep.**, v.36, n.7, p.1009-1025, 2017. Doi: 10.1007/s00299-017-2119-y.
- BITENCOURT, D.P.; FUENTES, M.V.; MAIA, P.A.; AMORIM, F.T. Frequency, Duration, Spatial Coverage, and Intensity of Heat Waves in Brazil. **Rev Bras Meteorol.**, v.31, n.4, p.506-517, 2016. Doi: 10.1590/0102-778631231420150077.
- CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genet. Mol. Biol.**, v.39, n.1, p.1-6, 2016. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109.
- CENTRO DE PREVISÃO DE TEMPO E ESTUDOS CLIMÁTICOS (CEPTEC), 2018. Disponível em: <[http://infoclima1.cptec.inpe.br/index\\_prog.shtml](http://infoclima1.cptec.inpe.br/index_prog.shtml)>. Acesso em 23 de janeiro de 2018.
- DIAZ, L.M.; RICAURTE, J.; TOVAR, E.; CAJIAO, C.; TERAN, H.; GRAJALES, M.; POLANÍA, J.; RAO, I.; BEEBE, S.; RAATZ, B. QTL analyses for tolerance to abiotic stresses in a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population. **PLoS ONE**, v.13, n.8, 2018. Doi: e0202342.
- GORAYA, G.K.; KAUR, B.; ASTHIR, B.; BALA, S.; KAUR, G.; FAROOQ, M. Rapid injuries of high temperature in plants. **J Plant Biol.**, v.60, n.4, p.298–305, 2017. Doi: 10.1007/s12374-016-0365-0.
- GUO, P.; QI, Y.; CAI, Y.; YANG, T.; YANG, L.; HUANG, Z.; CHEN, L. Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two Citrus species differing in aluminum tolerance. **Tree Physiol.**, v.38, n.10, p.1548-1565, 2018. Doi: 10.1093/treephys/tpy035.



IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report**. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 2014. 151 pp.

LAVANIA, D.; DHINGRA, A.; MANZER, H.; SIDDIQUI, M.H.; AL-WHAIBI, M.H.; ANIL GROVER, A. Current status of the production of high temperature tolerant transgenic crops for cultivation in warmer climates. **Plant Physiol Biochem.**, v.86, p.100-108, 2015. Doi: 10.1016/j.plaphy.2014.11.019.

LIU, W.; XU, F.; LV, T.; ZHOU, W.; CHEN, Y.; JIN, C.; LU, L.; LIN, X. Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. **Sci Total Environ.**, v.627, n.15, p.462–469, 2018. 10.1016/j.scitotenv.2018.01.021.

MOJICA, L.; MEYER, A.; BERHOW, M.A.; DE MEJÍA, E.G. Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, *in vitro* inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. **Food Res. Int.**, v.69, p.38-48, 2015. Doi: 10.1016/j.foodres.2014.12.007.

PARSA, S.; ORTIZ, V.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, M.I.; KRAMER, M.; VEGA, F.E. Root environment is a key determinant of fungal entomopathogen endophytism following seed treatment in the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Biol Control.**, v.116, p.74-81, 2018. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.09.001.

SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RIBEIRO, R.V.; OLIVEIRA, J.Ê.; CARDOSO, R. A. Photosynthetic and antioxidant responses of *Jatropha curcas* plants to heat stress: On the relative sensitivity of shoots and roots. **J Plant Growth Regul.**, v.37, n.1, p.255–265, 2017. Doi: 10.1007/s00344-017-9723-5.

SILVA, G.S.; GAVASSI, M.A.; NOGUEIRA, M.A.; HABERMANN, G. Aluminum prevents stomatal conductance from responding to vapor pressure deficit in *Citrus limonia*. **Environ Exp Bot.**, v.155, p.662–671, 2018. 10.1016/j.envexpbot.2018.08.017.

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. **Environ Exp Bot.**, v.137, p.177–193, 2017. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.01.005.

SOENGAS, P; RODRÍGUEZ, V.M; VELASCO, P.; CARTEA, M.E. Effect of temperature stress on antioxidant defenses in *Brassica oleracea*. **ACS Omega**, v.3, n.5, p.5237–5243, 2018. Doi: 10.1021/acsomega.8b00242.

SOUZA, M.A.; PIMENTEL, A.J.B.; RIBEIRO, G. Melhoramento para tolerância ao calor. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Eds.) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. cap.9. p.199-226.

VITORELLO, V.A.; CAPALDI, F.R.; STEFANUTO, V.A. Recent advances in aluminium toxicity and resistance in higher plants. **Braz J Plant Physiol.**, v.17, p.129-143, 2005. Doi: 10.1590/S1677-04202005000100011.

## OBJETIVO GERAL

Objetivou-se com este estudo selecionar características fisiológicas, bioquímicas, morfoanatômicas e nutricionais com potencial para serem utilizadas como indicadoras da tolerância à alta temperatura (AT, 40°C), alta concentração de alumínio (Al) e a combinação dos estresses (AT+Al) e ainda, caracterizar a tolerância diferencial de quatro cultivares de feijão.

CAPÍTULO I

**EFEITOS DOS ESTRESSES TÉRMICO E PELO ALUMÍNIO NO  
PROCESSO FOTOSSINTÉTICO E BIOQUÍMICO DE PLANTAS  
DE FEIJÃO**

## RESUMO

Solos ácidos são encontrados em 30 a 40% das terras potencialmente agricultáveis no mundo, e conseqüentemente, possuem altas concentrações de alumínio (Al). Adicionalmente, o aumento na frequência e na intensidade das ondas de calor, decorrente das mudanças climáticas, podem potencializar os danos nas plantas, ocasionando reduções na produtividade e até a morte em condições extremas. Nesse cenário, a manutenção da produtividade de culturas agrícolas economicamente importantes pode ser severamente comprometida, como é o caso do feijão, cultivado em todo o mundo. Assim, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos da alta temperatura (AT), alta concentração de Al no solo (Al) e a combinação desses estresses (AT+Al) nas características fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de feijão, além identificar os potenciais parâmetros na caracterização da tolerância diferencial dessas plantas. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. Foram utilizadas a cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), a BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139; duas temperaturas (25°C e 40°C) e 2 concentrações de Al (0,05 cmol/dm<sup>3</sup> e 1,14 cmol/dm<sup>3</sup> de Al). O solo, naturalmente com alto teor de Al, foi incubado com hidróxido de cálcio, para os tratamentos com ausência de Al. Os tratamentos impostos desencadearam alterações na fisiologia e bioquímica das cultivares avaliadas. Os efeitos dos estresses por Al e AT+Al foram mais severos em comparação à imposição do estresse térmico isolado (AT). As análises de trocas gasosas ( $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ), fluorescência ( $Y_{II}$ ,  $qP$ ,  $NPQ$ ) e pigmentos fotossintéticos foram sensíveis com a aplicação dos diferentes estresses abióticos. As cultivares BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao estresse combinado (AT+Al), em relação ao tratamento Al. Por outro lado, a cultivar Campos Gerais foi menos afetada pelo tratamento AT+Al, seguida pela cultivar Tepary.

**PALAVRAS-CHAVES:** alta temperatura, danos fotoquímicos, fitotoxicidade, mudanças climáticas, *Phaseolus sp.*

## ABSTRACT

Acidic soils are found in 30 to 40% of the world's potentially arable land, and consequently have high aluminum (Al) concentrations. In addition, the increase in the frequency and intensity of heat waves due to climate change can increase plant damage, leading to reductions in productivity and even death under extreme conditions. In this scenario, the maintenance of economically important agricultural crops productivity can be severely compromised, as is the case of beans, grown throughout the world. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of high temperature (AT), high Al concentration in the soil (Al) and the combination of these stresses (AT+Al) on physiological, biochemical and morpho-anatomical characteristics of different bean cultivars, besides identifying the potential parameters in the characterization of the differential tolerance of these plants. The experiment was carried out in a growth chamber in the Ecophysiology and Vegetable Productivity Laboratory of the Goiano Federal Institute - Rio Verde Campus. The cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) and three cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*), BRS Estilo, Campos Gerais and IPR 139; as well as two temperatures (25°C and 40°C) and 2 Al concentrations (0.05 cmol/dm<sup>3</sup> and 1.14 cmol/dm<sup>3</sup> Al) were evaluated. The soil, naturally with high Al content, was incubated with calcium hydroxide for the treatments without Al. The treatments imposed triggered changes in physiology, biochemistry and anatomy of the evaluated cultivars. The effects of Al and AT+Al stresses were more severe compared to the imposition of isolated thermal stress (AT). The analyzes of gas exchange ( $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ), fluorescence ( $Y_{II}$ ,  $qP$ ,  $NPQ$ ) and photosynthetic pigments were sensitive to the different abiotic stresses application.

**KEY-WORDS:** high temperature, photochemical damage, phytotoxicity, climatic changes, *Phaseolus* sp.

## 1. INTRODUÇÃO

A população está crescendo a taxas exponenciais, o que culminará com uma demanda de alimentos cada vez maior (Bita e Gerats, 2013). No entanto, os esforços para aumentar e maximizar os rendimentos das culturas alimentares podem ser prejudicados pela ocorrência de estresses abióticos, como aumento da temperatura atmosférica e acidez do solo. Devido as mudanças climáticas, as ondas de calor têm se tornado um problema cada vez mais frequente em todo o mundo (Trenberth et al., 2014). Além disso, mais de 40% das terras potencialmente agricultáveis são compostas por solos ácidos que possuem altas concentrações de alumínio (Al) (Singh et al., 2017). O alto teor de Al no solo causa redução na produtividade das culturas, requerendo cada vez mais insumos para reverter essa situação (Butare et al., 2011). Assim, a seleção de genótipos e cultivares menos suscetíveis poderiam reduzir os efeitos negativos da alta temperatura e toxicidade do Al sobre o crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas. Desta forma, uma melhor compreensão das respostas fisiológicas aos estresses térmico e por Al, assim como a caracterização dos mecanismos de tolerância são cruciais para a manutenção e/ou melhora da produção do feijão.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas produtoras de grãos mais importantes para consumo humano no mundo. Além disso, é geralmente cultivada por pequenos agricultores, promovendo a sustentabilidade social e econômica. As médias nacionais de produtividade do feijão ao longo dos trópicos variam tipicamente de 500 a 700 kg ha<sup>-1</sup>, significativamente abaixo do seu potencial produtivo (Diaz et al., 2018). A cultura desenvolve-se bem em uma faixa de temperaturas de 18°C a 30°C, médias noturnas e diurnas, respectivamente, mas variações fora desta faixa podem gerar danos para a produção (Aidar et al., 2003). O feijoeiro também é uma planta nutricionalmente exigente, em função do seu ciclo curto e sistema radicular superficial, o que torna essa cultura mais sensível a essas condições de estresse (Rosolem e Marubayashi, 1994). Por outro lado, o feijão Tepary possui atributos genéticos únicos, como a tolerância à seca (Markhart, 1985), o estresse por calor e sal, tornando-a uma cultura ideal para o cultivo em ambientes áridos e semiáridos (Mhlaba et al., 2018).

A maioria dos trabalhos realizados para seleção de culturas tolerantes tem avaliado os estresses térmicos e por Al separadamente (Silva et al., 2017; Liu et al., 2018). De fato, ambas as respostas das plantas para a alta temperatura e ao estresse por

Al têm muitas similaridades, visto que esses estresses, individualmente, podem provocar alterações metabólicas como danos nas estruturas celulares, nos complexos fotossintéticos que ocasionam reduções no crescimento das plantas (Hatfield e Prueger, 2015; Singh et al., 2017). Assim, acredita-se que esses estresses, impostos de forma combinada, intensifiquem os danos metabólicos e fisiológicos nas plantas e afetem drasticamente o rendimento final dessa cultura. Em resposta a essas condições estressantes, plantas tolerantes podem sustentar as trocas gasosas foliares em comparação com plantas sensíveis, apresentando assim maiores valores de taxa fotossintética, transpiratória e condutância estomática (Silva et al., 2017; Guo et al., 2018).

As análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* são ferramentas não invasivas importantes para avaliar o desempenho fotossintético, bem como o monitoramento da dinâmica fotoquímica nas espécies vegetais submetidas à diversas condições de estresses (Stirbet et al., 2018; Li et al., 2018). É possível obter informações acerca do rendimento quântico efetivo do fotossistema, a taxa de transporte de elétrons envolvida na etapa fotoquímica da fotossíntese, assim como a dissipação de energia térmica não regulada, em resposta às situações de estresse (Stirbet et al., 2018). Além das respostas fotoquímicas, diversos tipos de estresses, como alta temperatura e Al, podem promover o aumento de enzimas antioxidantes (Guo et al., 2018; Soengas et al., 2018). O nível de espécies reativas de oxigênio (EROs) na célula é determinado pelo equilíbrio entre sua produção e eliminação por antioxidantes. Quando os níveis de EROs excedem um limiar necessário para os processos metabólicos da planta, eles se tornam capazes de danificar as principais macromoléculas da célula, isto é, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (Pandey et al., 2017). Para manter uma homeostase redox, enzimas antioxidantes são continuamente ativadas nas plantas. O incremento na atividade das enzimas peroxidase do ascorbato (APX), dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) foram relacionadas com a maior tolerância de *Citrus sinensis* ao Al (Guo et al., 2018). Em plantas de *Brassica oleracea*, a atividade enzimática de CAT, SOD e redutase da glutatona (GR) foi significativamente maior sob estresse térmico do que sob condições controle (Soengas et al., 2018).

Diante do contexto apresentado, a hipótese do trabalho é de que os estresses térmicos e por Al, expostos de forma combinada, é mais prejudicial às cultivares de feijão, em relação aos estresses impostos individualmente. Assim, o presente trabalho objetivou: (i) avaliar a tolerância diferencial de cultivares de feijão aos estresses por alta



temperatura (AT), alto teor de alumínio (Al), e ambos os estresses aplicados de forma combinada (AT+Al); (ii) identificar as características fisiológicas e/ou bioquímicas potenciais para a seleção de plantas de feijão tolerantes a esses estresses.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Condições Experimentais

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento climatizada no Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Goiás, Brasil. Foram utilizadas quatro cultivares de feijão, sendo a espécie *Phaseolus acutifolius* (feijão Tepary), previamente caracterizada como tolerante ao estresse térmico (Traub et al., 2018), e três cultivares de feijão comum *Phaseolus vulgaris* (BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139). As plantas foram cultivadas em vasos de polietileno (6 L) preenchidos com solo, com duas plantas por vaso. O solo foi coletado no Centro Tecnológico da Comigo, Rio Verde-GO (latitude 17°45'57" S; longitude 51°02'05" O), caracterizado por pH 3,8 (determinado em solução CaCl<sub>2</sub>), saturação por bases (m%) de 59,7, e teor de Al de 1,14 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> (extraído por solução de KCl a 1mol L<sup>-1</sup>), sendo esta concentração utilizada no tratamento com solo ácido e toxicidade por alumínio (Al). Para os demais tratamentos: referencial e por alta temperatura (AT), o solo foi previamente incubado com 1,59 g de hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) por dm<sup>-3</sup> durante 20 dias antes do plantio, a fim de atingir pH 5,0 e tornar o Al não disponível. O solo foi ainda adubado com os seguintes nutrientes (mg/dm<sup>-3</sup>): 56 mg de ureia; 318 mg de fosfato monoamônico (MAP); 110 mg de nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>); 213 mg de nitrato de magnésio (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 6,43 mg de sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>); 10,98 mg de cloreto de manganês (MnCl<sub>2</sub>); 4,37 mg de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>); 0,23 mg de molibdato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>) e 14,65 mg de sulfato de zinco (ZnSO<sub>4</sub>). A mesma adubação foi realizada no solo utilizado para os tratamentos com Al, que recebeu ainda uma correção adicional para o Ca com solução de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) para compensar o Ca(OH)<sub>2</sub> adicionado ao solo do referencial. Assim, constituíram-se dois tipos de solos: um com baixa concentração de Al (0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) tratado com Ca(OH)<sub>2</sub>; e outro naturalmente com alta concentração de Al (1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Para obtenção dos dados foram utilizados dois lotes de plantas, compondo 40 plantas em cada lote, os quais foram submetidos à temperatura diurna de 25°C e 40°C,

respectivamente. As plantas de ambos os lotes foram tratadas com solo livre da toxicidade do Al (“referencial”;  $0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ Al}$ ), e na presença de Al (Al;  $1,14 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ), obtendo os seguintes tratamentos: i) referencial ( $25^\circ\text{C}$ ,  $0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ Al}$ ); ii) AT ( $40^\circ\text{C}$ ,  $0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ Al}$ ); iii) Al ( $25^\circ\text{C}$ ,  $1,14 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ Al}$ ); e iv) os fatores combinados (AT+Al;  $40^\circ\text{C}$ ,  $1,14 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ Al}$ ). O estresse térmico foi imposto após 30 dias de plantio com o aumento gradual da temperatura ambiente a partir das 08h, até atingir  $40^\circ\text{C}$  às 11h – temperatura mantida até as 16h –, sendo então reduzida até  $20^\circ\text{C}$  (temperatura noturna) às 18h, a qual foi mantida até o novo ciclo no dia seguinte. O tratamento teve duração de oito (8) dias. Em ambos lotes, as condições de irradiância ( $\sim 650 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e umidade relativa ( $\sim 65\%$ ) da câmara de crescimento foram mantidas constantes.

As avaliações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, concentração de pigmentos e atividade de enzimas antioxidantes foram realizadas aos 38 dias de cultivo, quando as plantas estavam no início do estágio reprodutivo.

## 2.2. Trocas gasosas

As trocas gasosas das cultivares de feijão foram mensuradas em folhas completamente expandidas. A taxa fotossintética ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), taxa transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) foram obtidas utilizando o analisador de gases no infravermelho (IRGA, LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA). As medições foram realizadas entre 9h e 11h da manhã, utilizando radiação fotossinteticamente ativa constante ( $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), e concentração atmosf\u00e9rica de  $\text{CO}_2$  ( $\sim 415 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), temperatura ( $\sim 25,5^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa ( $\sim 76\%$ ) ambientes.

## 2.3. Fluoresc\u00eancia da Clorofila *a*

As vari\u00e1veis de fluoresc\u00eancia da clorofila *a* foram avaliadas utilizando o fluor\u00f4metro modulado que vem acoplado ao analisador de gases no infravermelho port\u00e1til (IRGA, modelo LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA). Primeiramente, foi realizada a ilumina\u00e7\u00e3o da amostra com luz act\u00ednica cont\u00ednua ( $\sim 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) durante 40 s, e depois foi aplicado um pulso de satura\u00e7\u00e3o para determinar a fluoresc\u00eancia m\u00e1xima ( $F_m'$ ) e estacion\u00e1ria ( $F_s$ ) das folhas adaptadas ao claro. A partir dos dados obtidos, foram calculados o rendimento qu\u00e2ntico efetivo do FSII ( $Y_{II} = [F_m' -$

F]/Fm') (Lichtenthaler et al., 2005), o coeficiente de extinção fotoquímico [ $qP = (Fm' - Fs)/(Fm' - Fo')$ ], e a dissipação não fotoquímica regulada (NPQ =  $[Fm - Fm']/Fm'$ ), que estima a constante da taxa de perda de calor do FSII (Maxwell e Johnson, 2000). O  $Y_{II}$  foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR =  $Y_{II} \cdot PAR \cdot 0,84 \cdot 0,5$ ), em que PAR é o fluxo de fótons ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) incidente sobre a folha; 0,5 o valor correspondente à fração de energia de excitação distribuída para o FSII; e 0,84 o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas (Bilger et al., 1995).

#### 2.4. Concentração de pigmentos cloroplastídicos

A concentração de pigmentos foi determinada a partir da extração em dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), mediante ajustes da metodologia descrita por Ronen e Galun (1984). Discos foliares ( $0,58 \text{ cm}^2$ ) foram incubados em frascos escurecidos contendo 5 mL da solução de extração, pelo período de 24 horas a  $65^\circ\text{C}$ , em banho-maria. Posteriormente, a absorbância da solução das amostras foi determinada nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Modelo Evolution 60S, Thermo, Madison, EUA). As concentrações de clorofila *a* ( $C_a = 12,19A_{665} - 3,45A_{649}$ ), clorofila *b* ( $C_b = 21,99A_{649} - 5,32A_{665}$ ) e carotenoides totais [ $C_t = (1000A_{480} - 2,14C_a - 70,16C_b)/220$ ] foram calculadas de acordo com Wellburn (1994) e expressos por área.

#### 2.5 Peroxidação de lipídios e atividade de enzimas antioxidantes

A peroxidação de lipídios foi avaliada a partir da taxa de liberação de eletrólitos (TLE) conforme descrito por Vasquez-Tello et al. (1990) e Pimentel et al. (2002), com modificações. Discos foliares ( $\sim 3 \text{ cm}^2$ ), previamente lavados, foram submersos em 30 mL de água desionizada, em frascos âmbar, em temperatura ambiente. Após 24 horas, foi mensurada a condutividade livre (CL,  $\mu\text{S/cm}$ ), utilizando condutímetro digital portátil (CD-850, Instrutherm, Brasil). Posteriormente, os frascos foram colocados em estufa a  $100^\circ\text{C}$  e, após uma hora, retirados para leitura da condutividade total (CT,  $\mu\text{S/cm}$ ), em temperatura ambiente, para o cálculo da TLE ( $\% = \text{CL}/\text{CT} \times 100$ ).

Para análise enzimática foram coletadas folhas do primeiro trifólio completamente expandido (do ápice para base), aproximadamente às 10h da manhã. Para a determinação da atividade da dismutase do superóxido (SOD), da catalase

(CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidases totais (POX), foram macerados aproximadamente 0,3 g de tecido foliar em almofariz com nitrogênio líquido contendo 2 mL do seguinte meio de extração: tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,8), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, 0,1 mM), fluoreto de fenilmetilsufônico (PMSF, 1 mM) e polivinilpirrolidona (PVP, 2%). O extrato enzimático foi centrifugado a 12,000 g durante 15 min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado como extrato bruto.

A atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi determinada a partir da metodologia proposta por Del Longo et al. (1993), mediante a mensuração da capacidade da enzima em reduzir fotoquimicamente o azul de nitrotetrazólio (NBT). A mistura de reação consistiu de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), metionina (13 mM), NBT (0,075 mM), EDTA (0,1 mM) e riboflavina (0,002 mM). A reação foi iniciada após a adição 10 µL do extrato enzimático em 280 µL da mistura da reação. A reação ocorreu a 25°C sob exposição de uma lâmpada de 15-W. Após 10 min de exposição à luz, a mesma foi interrompida e a produção de formazana azul, resultado da fotoredução do NBT, foi determinada a 560 nm em um leitor de microplacas (Modelo VersaMax, Molecular Devices, Sunnyvale, EUA), de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). Posteriormente, as amostras controles foram mantidas no escuro durante 10 min e medida a absorbância a 560 nm. Os valores obtidos do branco das amostras foram subtraídos dos valores das amostras de cada uma das repetições de cada tratamento exposto à luz. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da fotoredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi determinada segundo Havir e Mc Hale (1987), com algumas modificações. A reação foi iniciada após adição de 10 µL do extrato bruto enzimático em 990 µL do meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio (25 mM, pH 7,0) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (2,5 mM) e mensurada pela velocidade da quebra de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em um espectrofotômetro UV-VIS (modelo Evolution 60S, Thermo, Madison, EUA), a 240 nm, 25°C, durante 3 min. O coeficiente de extinção molar de 36 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Anderson et al., 1995) foi utilizado para calcular a atividade da enzima.

Para a atividade da APX (EC 1.11.1.11) foi utilizada a metodologia proposta por Nakano e Asada (1981). A reação foi iniciada após a adição de 50 µL do extrato enzimático bruto em 1,95 mL do meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM) e ascorbato (0,8 mM). A atividade da APX foi medida pela taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, 25°C, durante um minuto, em

espectrofotômetro UV-VIS (modelo Evolution 60S, Thermo, Madison, EUA). O coeficiente de extinção molar de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Nakano e Asada, 1981) foi utilizado para calcular a atividade da APX.

A atividade das peroxidases totais (POX) (EC 1.11.1.7) foi determinada adicionando-se 100  $\mu\text{l}$  do extrato bruto enzimático no meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio 25 mM (pH 6,8), pirogalol 20 mM e  $\text{H}_2\text{O}_2$  20 mM em um volume de 2 mL (Kar e Mishra, 1976). A produção de purpurogalina foi determinada pelo incremento da absorvância durante o primeiro minuto de reação a 420 nm, 25°C, durante 1 min, em espectrofotômetro UV-VIS (modelo Evolution 60S, Thermo, Madison, EUA). Para o cálculo da atividade da POX foi utilizado o coeficiente de extinção de  $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Chance e Maehley, 1955).

A atividade das enzimas foi expressa com base em proteína, determinada de acordo com o método de Bradford (Bradford, 1976).

## 2.6. Características visuais

Os fenótipos das cultivares foram avaliados e registrados por imagens fotográficas aos 38 dias de cultivo das plantas.

## 2.7. Análises estatísticas

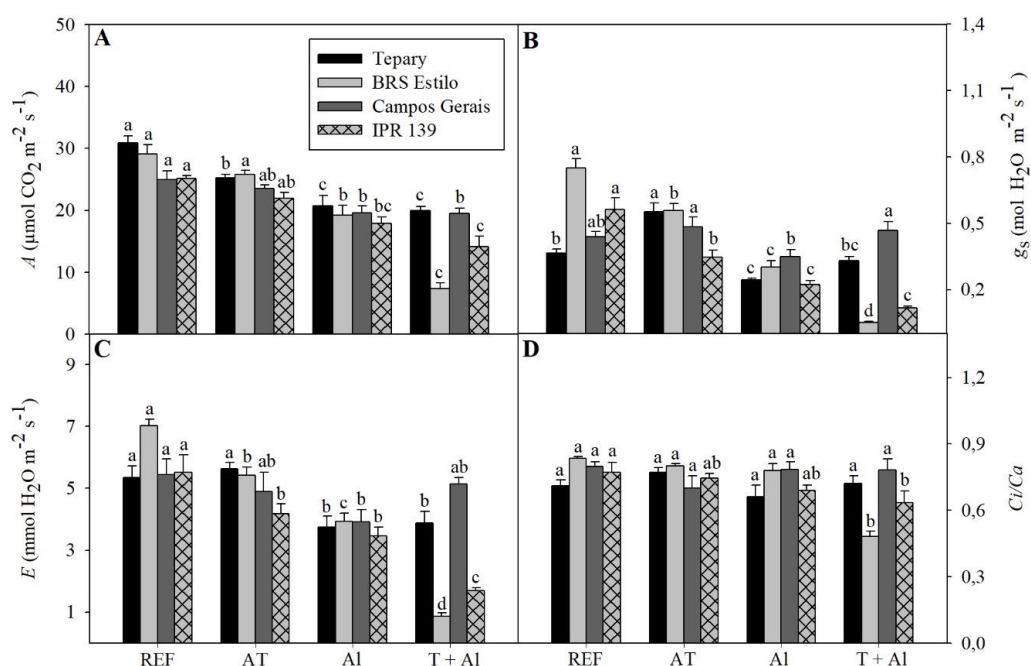
O delineamento experimental utilizado neste trabalho foi o de blocos ao acaso, sendo quatro cultivares de feijão e quatro condições de cultivo, com 5 repetições. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade, homogeneidade dos erros, análise de variância e ao teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) por meio do software estatístico SISVAR. Foram ainda calculadas as porcentagens de alterações ocasionadas pelos estresses impostos em comparação ao seus respectivos referenciais ( $\% = [\text{Tratamento} - \text{Referencial}] / \text{Referencial} * 100$ ), os quais estão apresentados no apêndice (Tabelas 1, 2 e 3).

# 3. RESULTADOS

## 3.1 Trocas gasosas

Foram observadas reduções na taxa fotossintética ( $A$ ) das quatro cultivares avaliadas (Figura 1A), de forma mais pronunciada nos tratamentos Al e AT+Al. Sob estresse térmico (AT), a condutância estomática ( $g_s$ ) aumentou significativamente na

cultivar Tepary e reduziu nas cultivares BRS Estilo e IPR 139 (Figura 1B). A taxa transpiratória ( $E$ ) não foi alterada nas cultivares Tepary e Campos Gerais expostas à AT, em relação ao referencial, porém reduziu nas cultivares BRS Estilo e IPR 139 (Figura 1C). A  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  foram reduzidas nas cultivares IPR 139 e BRS Estilo, expostas aos estresses combinados (AT+Al). No entanto, a cultivar BRS Estilo foi a mais sensível para as variáveis de trocas gasosas quando exposta ao tratamento AT+Al, em comparação ao tratamento Al.

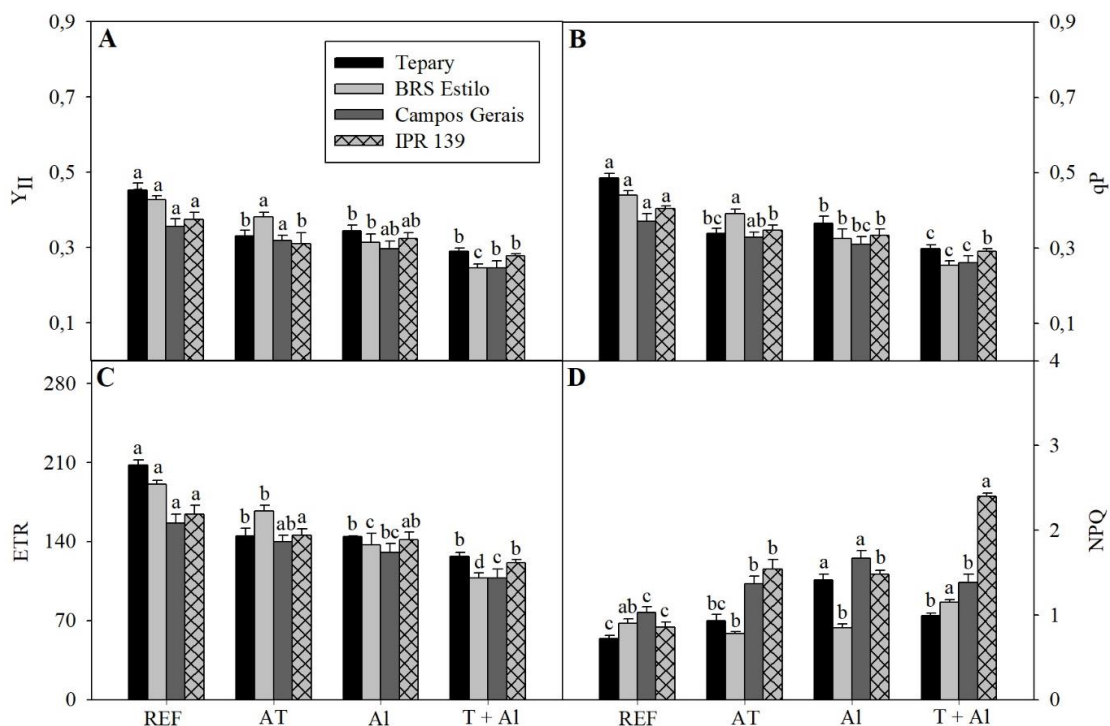


**Figura 1.** Taxa fotossintética ( $A$ , A), condutância estomática ( $g_s$ , B), taxa transpiratória ( $E$ , C) e razão entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ , D) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  Al). Barras representam médias  $\pm$  EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

### 3.2 Fluorescência da clorofila $a$

Foram observadas reduções na eficiência quântica efetiva do fotossistema II ( $Y_{II}$ ), dissipação fotoquímica ( $qP$ ) e taxa de transporte de elétrons (ETR) na cultivar Tepary em todos os tratamentos avaliados (Figura 2). As cultivares Campos Gerais e IPR 139 demonstraram sensibilidade ao estresse combinado (AT+Al) para as variáveis  $Y_{II}$ ,  $qP$  e ETR (Figura 2). Dentre as cultivares a BRS Estilo foi a que apresentou a maior

sensibilidade para os tratamentos Al e AT+Al. O coeficiente de extinção não fotoquímica da fluorescência (NPQ) aumentou significativamente nas cultivares Tepary, Campos Gerais e IPR 139, em todos os tratamentos avaliados, porém de forma mais evidente na condição de estresses combinados (AT+Al) (Fig 2D).



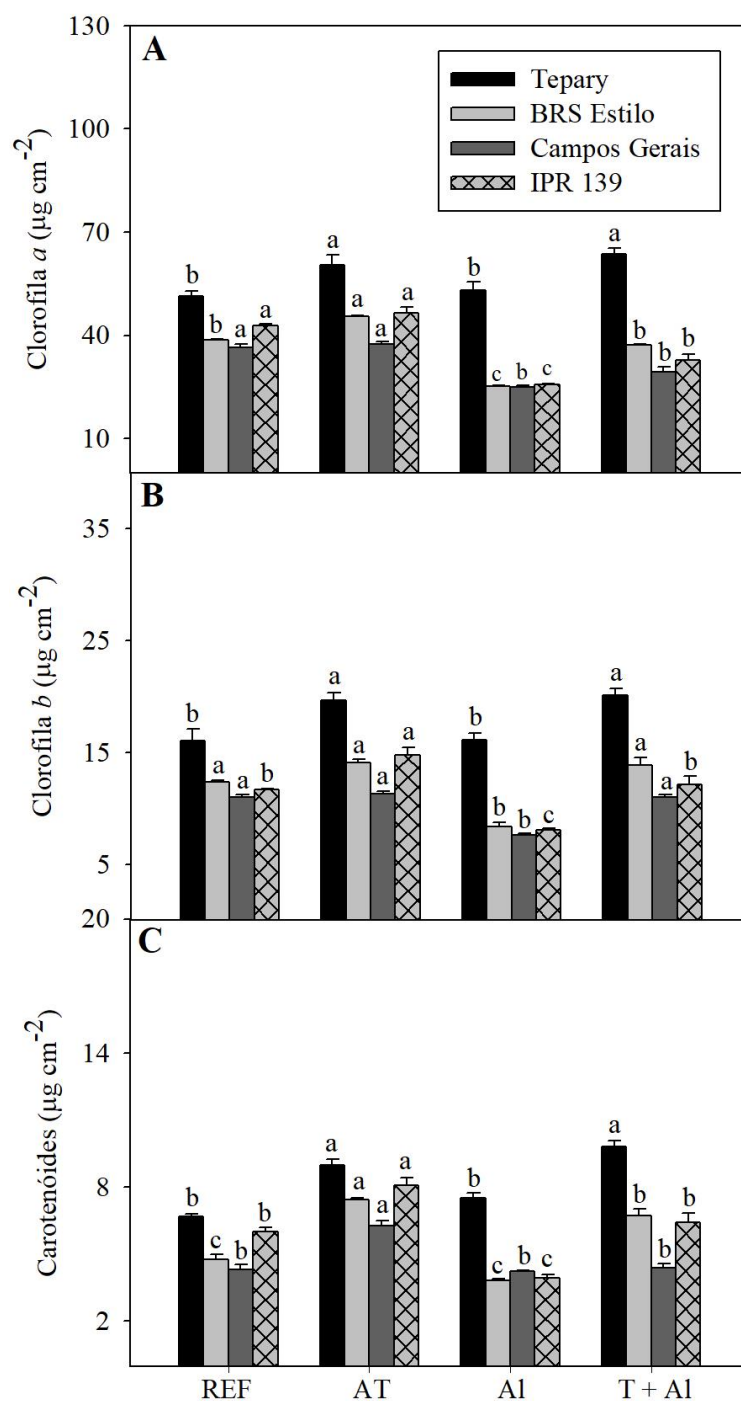
**Figura 2.** Rendimento quântico efetivo do FSII ( $Y_{II}$ , A), coeficiente de extinção fotoquímica (qP, B), taxa de transporte de elétrons (ETR, C) e coeficiente de extinção não fotoquímica da fluorescência (NPQ, D) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al). Barras representam médias  $\pm$  EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

### 3.3 Pigmentos fotossintéticos

Diferentes respostas foram observadas na concentração de pigmentos fotossintéticos nas quatro cultivares de feijão expostas aos estresses térmico, por Al e de forma combinada. A cultivar Tepary apresentou incremento na concentração das clorofilas *a* (Figura 3A), *b* (Figura 3B) e carotenoides totais (Figura 3C) quando expostas aos tratamentos AT e AT+Al. As cultivares BRS Estilo e Campos Gerais tiveram redução na concentração das clorofilas (Figura 3A, B) sob alto teor de alumínio (Al) e aumento na concentração de carotenoides quando as plantas foram tratadas com

alta temperatura (AT) (Figura 3C). Maior acúmulo de clorofilas *b* e carotenoides foi observado na cultivar IPR 139 sob AT, em detrimento à concentração observada para os pigmentos nas plantas expostas ao AI (Figura 3).

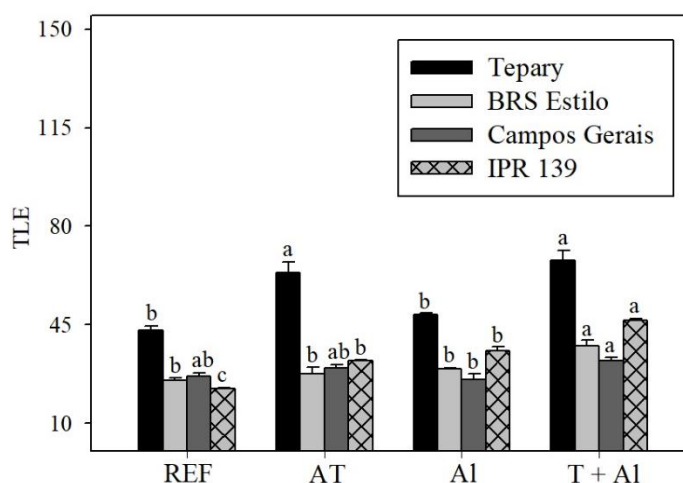




**Figura 3.** Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e carotenóides (C) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al). Barras representam médias  $\pm$  EP ( $n = 5$ ). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão ( $P < 0,05$ ).

### 3.4 Taxa de liberação de eletrólitos e atividade das enzimas antioxidantes

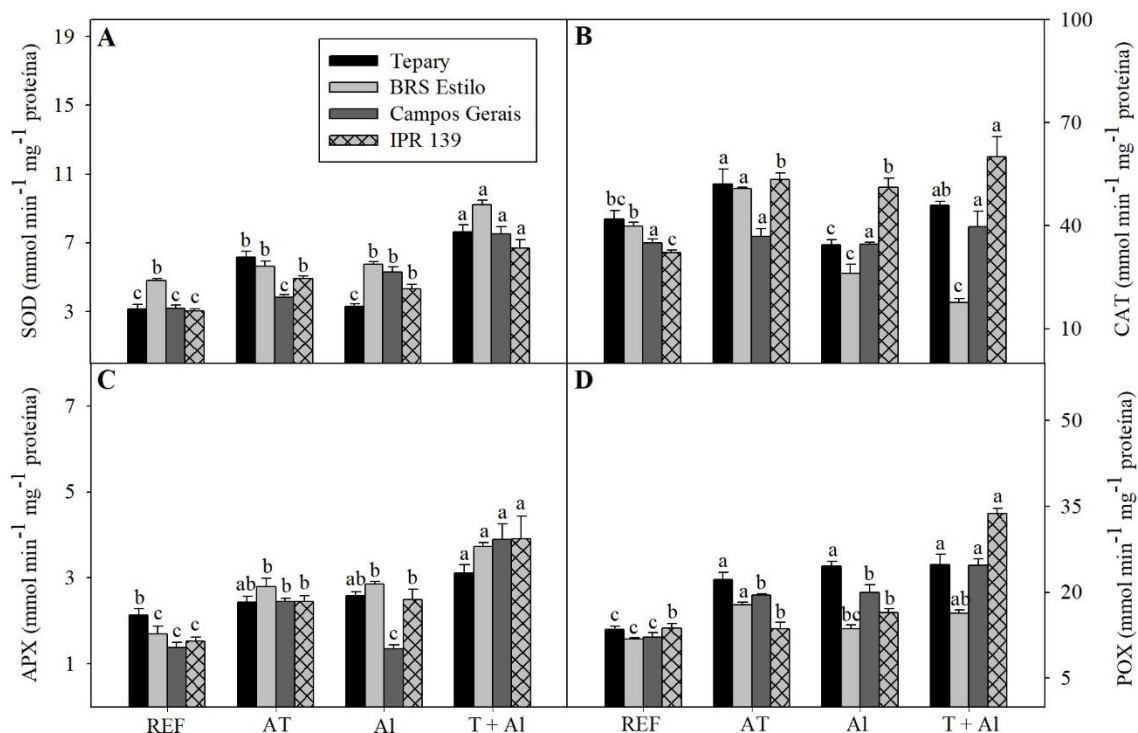
A taxa de liberação de eletrólitos (TLE) teve efeito diferencial entre as cultivares avaliadas. Enquanto não foi possível observar alterações significativas no TLE na cultivar Campos Gerais, observou-se aumento no TLE na cultivar Tepary exposta aos tratamentos AT e AT+Al, e na cultivar BRS Estilo, tratada com AT+Al (Figura 4). A cultivar IPR 139 apresentou aumento significativo no TLE em todos os tratamentos avaliados, em relação ao referencial (Figura 4).



**Figura 4.** Taxa de liberação de eletrólitos (TLE) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

Incrementos na atividade de enzimas antioxidantes foram observadas em todas as cultivares de feijão avaliadas (Figura 5), principalmente para as enzimas peroxidases, como a peroxidase do ascorbato (APX, Fig 5C) e as peroxidases totais (POX, Figura 5D). A atividade da dismutase do superóxido (SOD) foi aumentada na cultivar Tepary e Campos Gerais, quando expostas aos tratamentos isolados de AT e Al, respectivamente (Figura 5A). O tratamento combinado por AT+Al promoveu aumento significativo nas enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX e POX) das cultivares Tepary e Campos Gerais (Figura 5). A atividade das SOD, APX e POX também foram aumentadas na BRS Estilo sob AT+Al (Figura 5A, C, D). Entretanto a catalase teve a sua atividade

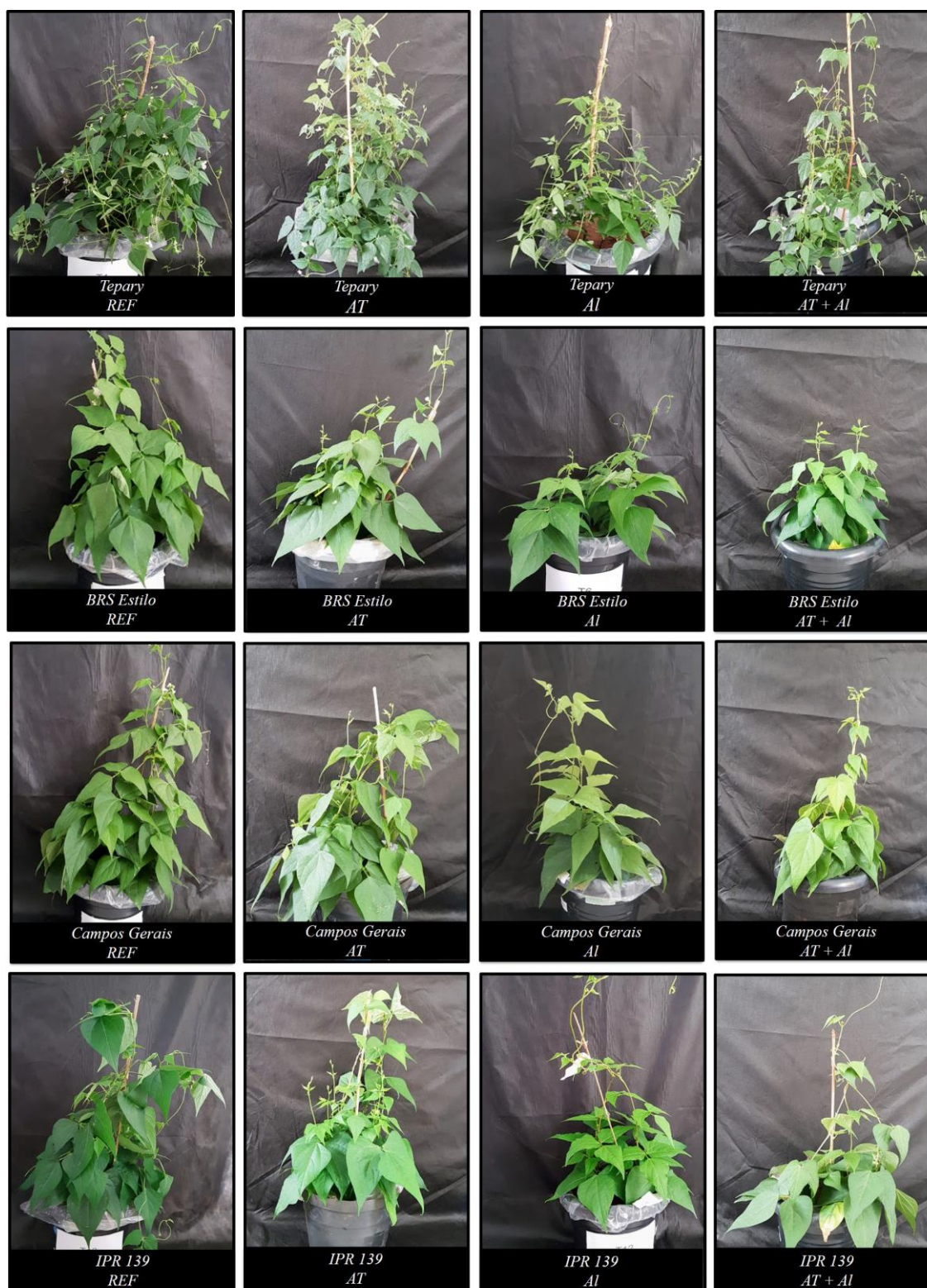
reduzida na cultivar BRS Estilo cultivada sob Al e AT+Al (Figura 5B). Um aumento na atividade enzimática (SOD, CAT, APX e POX) foi observado na cultivar IPR 139, em todos os tratamentos avaliados (Figura 5).



**Figura 5.** Atividade das enzimas antioxidantes: Dismutase do superóxido (SOD, A), Catalase (CAT, B), Peroxidase do ascorbato (APX, C) e Peroxidase (POX, D) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$  Al). Barras representam médias  $\pm$  EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão ( $P < 0,05$ ).

### 3.5 Sintomas visuais

Observou-se amarelecimento das folhas da cultivar Campos Gerais quando expostas aos tratamentos Al e AT+Al. Nas cultivares BRS Estilo e IPR 139, observou-se início de senescência foliar quando submetidas ao tratamento AT+Al (Figura 6).



**Figura 6.** Fenótipo da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al).

#### 4. DISCUSSÃO

Danos aos componentes fotossintéticos têm sido descritos em resposta aos diferentes estresses abióticos e podem reduzir transitoriamente ou permanentemente a capacidade fotossintética geral de uma planta (Ashraf e Harris, 2013). Assim, a fotossíntese ( $A$ ) tem sido amplamente reconhecida como sensível aos estresses ambientais. Investigações demonstraram redução notável na  $A$  pelos estresses térmico e alto teor de Al em diferentes espécies de plantas (Silva et al., 2017; Guo et al., 2018). Este estudo também revelou que a  $A$  diminuiu significativamente quando as plantas de feijão foram expostas aos estresses por Al e AT+Al. Os resultados deste estudo sugerem que a redução na  $A$  da cultivar BRS Estilo sob AT+Al pode ser atribuída a limitações difusivas relacionadas aos estômatos, como evidenciado pela diminuição de  $g_s$  e  $C_i/C_a$  (Silva et al., 2017). Enquanto, nas demais cultivares, a redução na  $A$  pode ser atribuída principalmente a limitações não difusivas, relacionadas ao ciclo de Calvin. Apesar das alterações observadas, as cultivares Tepary e Campos Gerais apresentaram menor sensibilidade nas características das trocas gasosas, independentemente do estresse imposto.

Danos na etapa fotoquímica da fotossíntese foram observados através da avaliação dos parâmetros de fluorescência da clorofila  $a$ . As maiores reduções na eficiência fotoquímica das plantas ocasionadas pelos estresses combinados foram observadas para as cultivares BRS Estilo e Tepary. Li et al. (2018), visualizaram reduções na atividade do FSI e FSII, sob a condição de estresse térmico combinado com deficiência de fosfato. A diminuição significativa do  $Y_{II}$  e  $qP$  pela alta temperatura, Al e AT+Al sugere a inibição da fotoquímica do FSII. Esses estresses impedem o fluxo de elétrons, confirmado pelos baixos valores de ETR, e conseqüentemente, reduzem a produção de ATP e NADPH. Esses produtos são requeridos no ciclo de Calvin, fase redutiva do carbono no processo fotossintético. O Al impede o fluxo de elétrons ao substituir o Fe entre os sítios de ligação  $Q_A$  e  $Q_B$  (Li et al. 2012), enquanto o estresse térmico causa aumento na fluidez das membranas dos tilacoides, desencadeando o desalojamento dos complexos coletor de luz do FSII (Mathur et al., 2014; Goraya et al., 2017). Por outro lado, foi possível observar a presença do mecanismo de dissipação térmica, através do aumento do NPQ, nas cultivares Tepary, Campos Gerais e IPR 139, independente do tratamento imposto. Esse mecanismo de dissipação do excesso de energia atua na mitigação do fotodano e estresse fotooxidativo nos cloroplastos (Silva et

al., 2017). No entanto, esse mecanismo de defesa, apesar de ter sido utilizado pela cultivar IPR 139, não foi eficaz em evitar os danos fotossintéticos nas plantas cultivadas sob AT+Al.

De forma similar, os pigmentos fotossintéticos também podem atuar na proteção das plantas contra o excesso de energia (Siddiqui et al., 2015; Zhou et al., 2017). Plantas mais tolerantes ao estresse térmico podem manter maior conteúdo de pigmentos foliares do que aquelas sensíveis (Zhou et al., 2015; Zhou et al. 2017), o que foi observado na cultivar Tepary, exposta aos tratamentos térmico e combinado (AT+Al). No presente estudo foi possível observar que a alta temperatura (AT+Al) estimulou o acúmulo de pigmentos fotossintéticos, em relação ao tratamento com Al. O aumento na concentração de pigmentos pode aumentar a eficiência de uso da luz durante o estresse, ou seja, representa uma resposta adaptativa das plantas. Entretanto, sob estresse por Al ocorreram reduções no conteúdo de clorofila nas cultivares de *P. vulgaris*. Essa resposta pode ser atribuída ao estresse oxidativo induzido pelo Al. A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode induzir a peroxidação lipídica e, portanto, a degradação das membranas de tilacoides, como observado em folhas de cacau (De Almeida et al. 2015), de tomate (Nogueirol et al., 2015) e de espécies de feijão, do presente estudo. Como mecanismo de proteção às EROs, o aumento na produção sinaliza para a biossíntese e maior atividade de enzimas antioxidantes (Pandey et al., 2017).

Dentre as cultivares avaliadas, observou-se que a cultivar BRS Estilo possui um sistema antioxidante menos eficiente, em relação as demais cultivares. A SOD constitui uma linha de frente na defesa contra as EROs, uma vez que essa enzima catalisa a dismutação do radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) a  $H_2O_2$  (Caverzan et al., 2016). Já as enzimas APX, CAT e POX catalisam a conversão de  $H_2O_2$  em  $H_2O$ . A APX é relatada como sendo um regulador eficiente das EROs, pela efetiva contribuição na desintoxicação do  $H_2O_2$  celular (Pandey et al., 2017). Nas cultivares Campos Gerais e IPR 139 ocorreram aumentos expressivos da CAT sob os estresses. Incremento em sua atividade está relacionado com o aumento da tolerância aos estresses (Harsha et al., 2016). Entretanto, na BRS Estilo foram visualizadas reduções na atividade da CAT. A atividade reduzida, observada nessa enzima, pode ser explicada pelo aumento do nível de degradação enzimática ou pelo declínio na síntese dessa enzima em resposta aos estresses (Gür et al., 2010). Harsha et al. (2016) avaliou dos 37 genótipos de *Vigna*

*aconitifolia* expostos sob estresse térmico, e observou que 28 genótipos apresentaram aumento, enquanto outros nove genótipos reduziram a atividade da CAT.

Observa-se que o estresse por Al foi mais determinante na sensibilidade das cultivares de feijão do que o estresse térmico. Resultados similares foram verificados por Zhou et al (2017) ao avaliar diferentes genótipos de tomate, expostos ao estresse hídrico e térmico. Em plantas submetidas às altas temperaturas, a regulação da condutância estomática das folhas é vital para a manutenção da hidratação da planta, bem como na aquisição de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese (Nankishore e Farrell, 2016). Em alguns casos, o aumento da temperatura pode ocasionar no incremento da condutância estomática e transpiratória, os quais são mecanismos de resfriamento das folhas considerados importantes na tolerância ao calor. A utilização desse mecanismo de tolerância foi observada nas cultivares Tepary, sob estresse térmico, e Campos Gerais, sob os estresses térmico e combinado (AT+Al). Nessas situações, os estômatos permanecem abertos permitindo a transpiração e o resfriamento das folhas durante os períodos de maior temperatura, reduzindo a sua abertura com a diminuição da temperatura foliar, para evitar a perda excessiva de água (Feller, 2016; Nankishore e Farrell, 2016).

A combinação dos estresses térmico e por Al intensificou os efeitos deletérios em alguns parâmetros fotossintéticos e bioquímicos das cultivares BRS Estilo e IPR 139. Efeitos mais severos foram observados em plantas expostas aos estresses combinados, em relação aos estresses individuais, como na cultura de cevada (Rollins et al., 2017), grão-de-bico (Awasthi et al., 2014) e feijão (Butare et al., 2011).

## 5. CONCLUSÕES

Este estudo revelou pela primeira vez os efeitos combinados do estresse térmico e toxicidade por Al em *Phaseolus* sp. O estresse térmico individualmente não foi determinante em prejudicar as cultivares avaliadas. Por outro lado, os estresses por Al e AT +Al ocasionaram maiores reduções nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos avaliados. As cultivares BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao tratamento AT+Al, em relação ao tratamento Al. As análises de trocas gasosas ( $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ), fluorescência ( $Y_{II}$ ,  $qP$ ,  $NPQ$ ) e pigmentos fotossintéticos foram sensíveis à aplicação dos diferentes estresses abióticos. De modo geral, observou-se que a cultivar Campos Gerais foi menos afetada pelo tratamento AT+Al, seguida pela cultivar Tepary,

indicando a potencial utilização das variáveis fisiológicas na caracterização da tolerância diferencial aos estresses térmico e por alto teor de Al.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; DOS SANTOS, A.B.; THUNG, M. Recomendações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum em várzeas tropicais irrigadas por subirrigação. **Circular Técnica 60**-Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO, Dezembro, 2003.

ANDERSON, D.; PRASAD, K.; STEWART, R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiol.**, v.109, p.1247-1257, 1995.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v.51, p.163–190, 2013. Doi: 10.1007/s11099-013-0021-6.

AWASTHI, R.; KAUSHAL, N.; VADEZ, V.; TURNER, N.C.; BERGER, J.; SIDDIQUE, K.H.M.; NAYYAR, H. Individual and combined effects of transient drought and heat stress on carbon assimilation and seed filling in chickpea. **Funct Plant Biol.**, v.41, p.1148–1167, 2014. Doi: 10.1071/FP13340.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochem.**, v.44, p.276-87, 1971.

BILGER, W.; SCHREIBER, U.; BOCK, M. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia**, v.102, p.425-432, 1995. Doi: 10.1007/BF00341354.

BITA, C.E.; GERATS T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Front Plant Sci.** v.4, n.273, 2013. Doi: 10.3389/fpls.2013.00273.



BRADFORD, M.N. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v.72, p.248-254, 1976.

BUTARE L., RAO I., LEPOIVRE P., POLANIA J., CAJIAO C., CUASQUER J., BEEBE S. New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined stress factors of aluminium toxicity and progressive soil drying. **Euphytica**, v.181, p.385-404, 2011. Doi: 10.1007/s10681-011-0468-0.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genet. Mol. Biol.**, v.39, n.1, p.1-6, 2016. Doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109.

CHANCE, B.; MAEHLY, A.C. Assay of Catalase and Peroxidase. **Methods Enzymol.**, v.2, p.764-775, 1955.

DE ALMEIDA, N.M.; DE ALMEIDA, A.A.F.; MANGABEIRA, P.A.O.; AHNERT, D.; REIS, G.S.M.; DE CASTRO, A.V. Molecular, biochemical, morphological and ultrastructural responses of cacao seedlings to aluminum ( $Al^{3+}$ ) toxicity. **Acta Physiol Plant.** v.37, n.5, 2015. Doi: 10.1007/s11738-014-1732-4.

DEL LONGO, O.T.; GOINZ'ZLEZ, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential to drought. **Plant Cell Physiol.**, v.37, n.7, p.1023-1028, 1993. Doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078515.

DIAZ, L.M.; RICAURTE, J.; TOVAR, E.; CAJIAO, C.; TERAN, H.; GRAJALES, M.; POLANÍA, J.; RAO, I.; BEEBE, S.; RAATZ, B. QTL analyses for tolerance to abiotic stresses in a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population. **PLoS ONE**, v.13, n.8, 2018. Doi: e0202342.

FELLER, U. Drought stress and carbon assimilation in a warming climate: Reversible and irreversible impacts. **J Plant Physiol.**, v.203, p.84-94, 2016. Doi: 10.1016/j.jplph.2016.04.002.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol.**, v.59, n.2, p.309-314, 1977.

GORAYA, G.K.; KAUR, B.; ASTHIR, B.; BALA, S.; KAUR, G.; FAROOQ, M. Rapid injuries of high temperature in plants. **J Plant Biol.**, v.60, n.4, p.298–305, 2017. Doi: 10.1007/s12374-016-0365-0.

GUO, P.; QI, Y.; CAI, Y.; YANG, T.; YANG, L.; HUANG, Z.; CHEN, L. Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two Citrus species differing in aluminum tolerance. **Tree Physiol.**, v.38, n.10, p.1548-1565, 2018. Doi: 10.1093/treephys/tpy035.

GÜR, A.; DEMIREL, U.; ÖZDEN, M.; KAHRAMAN, A.; ÇOPUR, O. Diurnal gradual heat stress affects antioxidant enzymes, proline accumulation and some physiological components in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Afr J Biotechnol.**, v.9, n.7, p.1008-1015, 2010. Doi: 10.5897/AJB09.1590.

HARSHA, A.; SHARMA, Y.K.; JOSHI, U.; RAMPURIA, S.; SINGH, G.; KUMAR, S.; SHARMA, R. Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*). **Ann Agric Sci**, v.61, n.1, p.57-64, 2016. Doi:10.1016/j.aos.2016.02.001.

HATFIELD, J.L.; PRUEGER, J.P. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. **Weather Clim Extrem.**, v.10, Parte A, p.4-10, 2015. Doi: 10.1016/j.wace.2015.08.001.

HAVIR, E.A.; MC-HALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiol.**, v.84, p.450-455, 1987.

INSTITUTO DE METEOROLOGIA PORTUGAL. Disponível em: <<http://www.meteo.pt/pt/oclima>>. Acesso em fev 2019.

- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiol.**, v.57, p.315-319, 1976.
- LI, L.; YANG, H.; LIU, P.; REN, W.; WU, X.; HUANG, F. Combined impact of heat stress and phosphate deficiency on growth and photochemical activity of sheepgrass (*Leymus chinensis*). **J Plant Physiol.**, v.231, p.271-276, 2018. Doi: 10.1016/j.jplph.2018.10.008.
- LI, Z.; XING, F.; XING, D. Characterization of target site of aluminum phytotoxicity in photosynthetic electron transport by fluorescence techniques in tobacco leaves. **Plant Cell Physiol.**, v.53, n.7, p.1295-1309, 2012. Doi: 10.1093/pcp/pcs076.
- LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica.** v.43, n.3, p.379–393, 2005. Doi: 10.1007/s11099-005-0062-6.
- LIU, W.; XU, F.; LV, T.; ZHOU, W.; CHEN, Y.; JIN, C.; LU, L.; LIN, X. Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. **Sci Total Environ.**, v.627, n.15, p.462–469, 2018. 10.1016/j.scitotenv.2018.01.021.
- MARKHART, A.H. Comparative Water Relations of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus acutifolius* Gray. **Plant Physiol.**, v.77, n.1, p.113–117, 1985.
- MATHUR, S.; AGRAWAL, D.; JAJOO, A. Photosynthesis: Response to high temperature stress. **J Photochem Photobiol B.**, v.137, p.116–126, 2014. Doi: 10.1016/j.jphotobiol.2014.01.010.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **J Exp Bot.**, v.51, n.345, p.659-668, 2000. Doi: 10.1093/jexbot/51.345.659.
- MHLABA, Z.B.; MASHILO, J.; SHIMELIS, H.; ASSEFA, A.B.; MODI, A.T. Progress in genetic analysis and breeding of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray): A

review. **Sci Hortic**, v.237, p.112–119, 2018. Doi: 10.1016/j.scienta.2018.04.012.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant, Cell & Physiol.**, v.22, p.867-80, 1981. Doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.

NANKISHORE, A.; FARRELL, A.D. The response of contrasting tomato genotypes to combined heat and drought stress. **J Plant Physiol.**, v.202, p.75–82, 2016. Doi: 10.1016/j.jplph.2016.07.006.

NOGUEIROL, R.C.; MONTEIRO, F.A.; GRATÃO, P.L.; BORGO, L; AZEVEDO, R.A. Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes. **Environ Monit Assess.**, v.187, n.73, 2015. Doi: 0.1007/s10661-015-4282-3.

PANDEY, S.; FARTYAL, D.; AGARWA, A.; SHUKLA, T.; JAMES, D.; KAUL, T.; NEGI, Y.K.; ARORA, S.; REDDY, M.K. Abiotic Stress Tolerance in Plants: Myriad Roles of Ascorbate Peroxidase. **Front Plant Sci.**, v.8, n.581, 2017. Doi: 10.3389/fpls.2017.00581.

PIMENTEL, C.; SARR, B.; DIOUF, O.; ABBOUD, A.C.S.; MACAULEY, H.R. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural Série Ciências da Vida**, v.22, p.07-14, 2002.

ROLLINS, J.A.; HABTE, E.; TEMPLER, S.E.; COLBY, T.; SCHMIDT, J.; VON KORFF, M. Leaf proteome alterations in the context of physiological and morphological responses to drought and heat stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). **J Exp Bot.**, v.64, p.3201–12, 2013. Doi: 10.1093/jxb/ert158.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environ Exp Bot.**, v.24, n.3, p.239-245, 1984. Doi: 10.1016/0098-8472(84)90004-2.

ROSOLEM, C.A.; MARUBAYASHI, O.M. Seja o doutor do seu feijoeiro. In: Informações Agronômicas. **International Plant Nutrition Institute (IPNI)**, Brasil, n.68, p.1-16, 1994.

SIDDIQUI, M.H.; AL-KHAISHANY, M.Y.; AL-QUTAMI, M.A.; AL-WHAIBI, M.H.; GROVER, A.; ALI, H.M.; AL-WAHIBI, M.S. Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress. **Saudi J Biol Sci.** v.22, p.656–63, 2015. Doi: 10.1016/j.sjbs.2015.06.002.

SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RIBEIRO, R.V.; OLIVEIRA, J.Ê.; CARDOSO, R. A. Photosynthetic and antioxidant responses of *Jatropha curcas* plants to heat stress: On the relative sensitivity of shoots and roots. **J Plant Growth Regul.**, v.37, n.1, p.255–265, 2017. Doi: 10.1007/s00344-017-9723-5.

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. **Environ Exp Bot.**, v.137, p.177–193, 2017. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.01.005.

SOENGAS, P; RODRÍGUEZ, V.M; VELASCO, P.; CARTEA, M.E. Effect of temperature stress on antioxidant defenses in *Brassica oleracea*. **ACS Omega**, v.3, n.5, p.5237–5243, 2018. Doi: 10.1021/acsomega.8b00242.

STIRBET, A.; LAZÁR, D.; KROMDIJK, J.; GOVINDJEE. Chlorophyll *a* fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? **Photosynthetica**, v.56, n.1, p.86–104, 2018. Doi: 10.1007/s11099-018-0770-3.

TRAUB, J.; PORCH, T.; NAEEM, M.; URREA, C.A.; AUSTIC, G.; KELLY, J.D.; LOESCHER, W. Screening for heat tolerance in *Phaseolus* spp. using multiple methods. **Crop Sci.**, v.58, n.6, p.2459-2468, 2018. Doi: 10.2135/cropsci2018.04.0275.

TRENBERTH, K.E.; DAI, A.; VAN DER SCHRIER, G.; JONES, P.D.; BARICHIVICH, J.; BRIFFA, K.R.; SHEFFIELD, J. Global warming and changes in drought. **Nat Clim Chang.**, v.4, p.17–22, 2014.

VASQUEZ-TELLO, A.Y.; ZUILY-FODIL, A.T.; PHAM THI, J.; VIEIRA, S. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. **J Exp Bot.**, v.41, p.827-832, 1990. Doi: 10.1093/jxb/41.7.827.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **J Plant Physiol.**, v.144, n.3, p.307-313, 1994. Doi: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2.

ZHOU, R.; YU, X.; KJÆR, K.H.; ROSENQVIST, E.; OTTOSEN, C.-O.; WU, Z. Screening and validation of tomato genotypes under heat stress using Fv/Fm to reveal the physiological mechanism of heat tolerance. **Environ Exp Bot.**, v.118, p.1-11, 2015. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.006.

ZHOU, R.; YU, X.; OTTOSEN, C.-O.; ROSENQVIST, E.; ZHAO, L.; WANG Y.; YU W.; ZHAO T.; WU Z. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. **BMC Plant Biol.** v.17, n.24, 2017. Doi: 10.1186/s12870-017-0974-x.

## 7. APÊNDICE

**Tabela 1.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da taxa fotossintética ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), rendimento quântico efetivo do FSII ( $Y_{II}$ ), *quenching* fotoquímico ( $qP$ ) e taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRATAMENTO	CULTIVAR	$A$	$g_s$	$E$	$Y_{II}$	$qP$	$ETR$
AT	Tepary bean	-17,9 A 2,81	+51,2A 8,61	+8,7A 2,16	-26,8B 2,71	-30,4B 2,9	-30,3B 2,33
	BRS Estilo	-15,6A 3,6	-29,7C 3,8	-22,1B 4,3	-12,5A 3	-13A 2,8	-12,3A 3,7
	Campos Gerais	-9A 3	+27,1B 4,4	-11,7B 0,9	-8,6A 1,2	-13,6A 2,8	-7,3A 0,8
	IPR 139	-12,61A 3,76	-36,80C 7,58	-28,24B 6,6	-17,3AB 2,9	-14,15A 3,3	-12,4A 2,55
Al	Tepary bean	-32,1B 7,4	-32,6A 5,5	-25,4A 4,5	-23,9A 2,7	-24,6A 3,2	-30,4C 1,6
	BRS Estilo	-33,8B 5,4	-58,9B 5,4	-43,6B 4,9	-26,8A 4,8	-26,1A 5,17	-28AB 5,5
	Campos Gerais	-16,8A 4,6	-24,5A 4,8	-27,3AB 4,5	-16,7A 0,6	-16,6A 0,8	-16,5A 0,6
	IPR 139	-28,8B 4,0	-58,7B 5,3	-40,3AB 6,7	-18,8A 2,5	-17,9A 3,1	-18,2AB 2,7
AT+Al	Tepary bean	-34,9AB 3,8	-15,5B 3,0	-32,3B 5,2	-35,5AB 3,6	-30,4AB 2,9	-38,6BC 2,8
	BRS Estilo	-74,4C 3,6	-93,2C 1,0	-87,6D 1,7	-42,5B 2,5	-42,2B 2,33	-43,6C 2,5
	Campos Gerais	-20,9A 5,4	+18,9A 4,6	-11,98A 3,11	-30,3AB 6,5	-28,4A 6,9	-30,3AB 6,5
	IPR 139	-43,4B 7,1	-77,9C 2,9	-67,7C 4,1	-25,3A 4,4	-28,1A 2,5	-25,3A 4,4

**Tabela 2.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRATAMENTO	CULTIVAR	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila Total	Carotenóides
AT	Tepary bean	+14,9AB 1,1	+25,5A 1,7	+20,7A 1,5	+35,2B 5,3
	BRS Estilo	+17,6A 0,6	+14,9B 1,2	+16,8A 0,9	+50,6A 1,4
	Campos Gerais	+4,2C 0,5	1,9C 0,2	+3,4B 0,5	+46,7AB 5,7
	IPR 133	+11,6B 0,6	+26,6A 2,2	+14,8A 1,3	+35,1B 3,7
Al	Tepary bean	+4,8A 0,4	+4,6A 0,8	+6,6A 1,2	+14,1A 1,3
	BRS Estilo	-34,6BC 0,6	-32,2B 2,6	-34,0BC 0,8	-19,2C 2,9
	Campos Gerais	-31,4B 1,6	-30,3B 2,2	-31,2B 1,6	-3,6B 0,1
	IPR 139	-39,9C 1,1	-30,4B 0,8	-37,9C 1,0	-34,2D 2,6
AT+Al	Tepary bean	+30,8A 2,3	+26,1A 2,0	+25,2A 3,2	+47,1A 4,7
	BRS Estilo	-4,0B 0,4	+18,1B 2,9	-0,8B 0,1	+41,6A 6,8
	Campos Gerais	-19,4C 0,5	+0,42C 0,0	-17,7C 2,9	+3,9B 0,4
	IPR 139	-23,2C 3,3	+3,5C 0,5	-18,7C 0,6	+10,6B 0,7



**Tabela 3.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da taxa de liberação de eletrólitos (TLE), Dismutase do superóxido (SOD), Catalase (CAT), Peroxidase do ascorbato (APX) e Peroxidase (POX) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRATAMENTO	CULTIVAR	TLE	SOD	CAT	APX	POX
AT	Tepary bean	+49,5A 3,7	+110,6A 8,4	+34,6B 3,1	+15,13B 1,9	+62,0A 4,9
	BRS Estilo	+8,3B 0,2	+18,0C 2,0	+28,4B 3,1	+68,0A 8,3	+50,7A 5,8
	Campos Gerais	+11,9B 0,3	+30,3C 3,4	+5,0C 1,1	+79,0A 6,2	+61,9A 9,4
	IPR 139	+43,4A 3,0	62,5B 9,2	+66,4A 6,1	+63,8A 7,4	1,9B 0,1
Al	Tepary bean	+13,8B 1,6	+9,4C 1,3	-16,6C 1,4	+27,7 2,9	+83,2A 12,0
	BRS Estilo	+17,2B 0,4	+21,9BC 1,8	-37,2D 4,4	+75,8A 10,4	+13,1B 0,8
	Campos Gerais	-3,5C 0,1	+71,5A 7,2	-1,5B 0,2	+1,5C 0,1	+65,7A 6,2
	IPR 139	+59,7A 6,6	+40,0B 4,4	+59,0A 6,6	+66,2A 10,5	+26,1B 3,0
AT+Al	Tepary bean	+57,4B 1,2	+129,3A 10,2	+13,6B 1,0	+45,9C 4,4	+83,8B 5,5
	BRS Estilo	+42,3C 1,8	+92,8B 7,2	-55,3C 3,1	+129,6B 3,8	+38,5C 4,4
	Campos Gerais	+21,0D 1,2	135,4A 11,7	+16,7B 0,2	+196,8A 8,2	+108,1B 3,2
	IPR 139	+107,7A 4,5	+120,5AB 15,2	+86,9A 5,2	+144,1B 8,6	+149,6A 17,0

## CAPÍTULO II

# **TOXICIDADE DO ALUMÍNIO E ALTA TEMPERATURA AFETAM A NUTRIÇÃO MINERAL, ANATOMIA FOLIAR E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE FEIJÃO**

## RESUMO

Atualmente, a alta temperatura tem sido a maior preocupação para a agricultura, uma vez que o aumento da temperatura tem afetado a produtividade de diferentes culturas em todo o mundo. Essa condição torna-se ainda mais drástica em regiões com a ocorrência de solos ácidos e baixa fertilidade. Assim, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da toxicidade do alumínio (Al) e da alta temperatura na nutrição mineral, anatomia e no crescimento de diferentes cultivares de feijão. O experimento consistiu de uma cultivar de *Phaseolus acutifolius* (Tepary) e três cultivares de *Phaseolus vulgaris* (BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139); duas temperaturas (25°C e 40°C); e 2 concentrações de Al (Al, 0 e 1,14 cmol/dm<sup>3</sup>). As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento, no Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde. Para a imposição dos tratamentos foi utilizado solo com alto teor natural de Al, coletado na região. Os tratamentos com ausência de Al utilizaram o mesmo solo, porém, no qual o Al foi indisponibilizado pela aplicação de hidróxido de cálcio. A alta temperatura (40°C) foi imposta de forma gradativa ao longo da manhã, sendo mantida por cinco horas, com subsequente redução gradativa até o dia seguinte. Aos 38 dias de cultivo, foram realizadas as medições de crescimento das plantas, coleta de amostras foliares para a avaliação anatômica e separação das diferentes partes da planta para obtenção das massas secas. O tratamento com alta concentração de Al ocasionou na absorção deste metal em todas as cultivares avaliadas. Foram observadas, ainda, reduções no conteúdo foliar de macro e micronutrientes, de forma mais pronunciada nos tratamentos Al e AT+Al. Os efeitos negativos do Al foram preponderantes nas características anatômicas e no acúmulo de nutrientes e comprometeu, de forma severa, o crescimento das plantas de feijão. As cultivares BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao estresse combinado (AT+Al), em relação ao tratamento Al. Por outro lado, as cultivares Campos Gerais e Tepary apresentaram uma tolerância parcial aos estresses impostos.

**PALAVRAS-CHAVES:** crescimento, elemento tóxico, estresse térmico, nutrientes.

## ABSTRACT

Currently, high temperature has been the major concern for agriculture, since the temperature increase has affected the productivity of different crops around the world. This condition becomes even more drastic in regions with the occurrence of acidic soils and low fertility. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of Al toxicity and high temperature on mineral nutrition, anatomy and growth of different bean cultivars. The experiment consisted of *Phaseolus acutifolius* (Tepary) cultivar and three *Phaseolus vulgaris* (BRS Estilo, Campos Gerais and IPR 139) cultivars; as well as two temperatures (25° C and 40° C); and 2 aluminum concentrations (Al, 0 and 1.14 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>). The plants were grown in a growth chamber in the Ecophysiology and Vegetable Productivity Laboratory of the Goiano Federal Institute, Rio Verde campus. For treatments imposition it was used soil with high natural aluminum content, collected in the region. The treatments without Al used the same soil, but in which the Al was unavailable by the calcium hydroxide application. The high temperature (40°C) was imposed gradually over the course of the morning, being maintained for five hours, with subsequent gradual reduction until the following day. At 38 days of cultivation, the measurements of plant growth, leaf sample collection for the anatomical evaluation and separation of the different plants' parts were taken to obtain the dry masses. The treatment with high concentration of Al resulted in the absorption of this metal in all cultivars evaluated. Reductions in macro and micronutrient leaf content were observed, more pronounced in Al and AT + Al treatments. The negative effects of Al were predominant in the anatomical characteristics and the accumulation of nutrients and severely compromised the growth of bean plants. The cultivars BRS Estilo and IPR 139 were more sensitive to the combined stress (AT+Al) than the Al treatment. On the other hand, the cultivars Campos Gerais and Tepary presented a partial tolerance to the imposed stresses.

**KEY-WORDS:** growth, toxic element, thermal stress, nutrients.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a leguminosa alimentar mais importante para consumo humano em partes da África Oriental e da América, com uma área total colhida de 30,6 milhões de hectares (Diaz et al., 2018). Entretanto, essa cultura está sujeita a uma série de estresses abióticos no ambiente natural, os quais reduzem a sua produtividade. Num futuro próximo, as mudanças climáticas provavelmente aumentarão as áreas de terra impróprias para a produção de feijão por causa das altas temperaturas (Traub et al., 2018). De fato, modelos climáticos preveem uma frequência e intensidade crescentes de ondas de calor e eventos de alta temperatura ao longo do século 21 (IPCC, 2014; Marias et al., 2017), que devem influenciar a distribuição e produtividade das espécies vegetais. Adicionalmente, 40% das terras aráveis do mundo são compostas de solos ácidos com concentrações fitotóxicas de alumínio (Al) (Kopittke et al., 2017). Embora os efeitos dos estresses isolados por alta temperatura e por alto teor de Al sejam bem documentados em plantas (Singh et al., 2017; Goraya et al., 2017), ainda não está claro até que ponto o estresse combinado pode influenciar a absorção de nutrientes, anatomia e desenvolvimento das plantas. Assim, estudos sobre os efeitos combinados de estresses abióticos são urgentes e relevantes, sobretudo na cultura do feijão, que é cultivada principalmente em países em desenvolvimento, com ampla ocorrência desses fatores ambientais.

Os estresses por alta temperatura e Al podem ocasionar alterações negativas na nutrição das plantas. Já é bem conhecido que o Al interfere na absorção e transporte de nutrientes como o cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), potássio (K) e ferro (Fe) (Rodrigues et al., 2017). Em plantas de *Citrus grandis* sensíveis ao Al ocorreram redução na absorção dos nutrientes nitrogênio (N), P, K, Ca, Mg e enxofre (S) (Guo et al., 2018). Os efeitos dos estresses térmicos no conteúdo nutricional das plantas têm sido menos estudados, mas, assim como o estresse por Al, temperaturas elevadas podem afetar negativamente as relações nutricionais (Giri et al., 2017), comprometendo o desenvolvimento e a produtividade das plantas.

Apesar de um certo grau de sobreposição, cada condição de estresse exige um mecanismo único de resposta, adaptado às necessidades específicas da planta, e cada combinação de duas ou mais tensões diferentes também pode exigir uma resposta específica. Há relatos avaliando os efeitos da alta temperatura e déficit hídrico combinados em *Phaseolus* sp. (Butare et al., 2011). Entretanto, até o momento, nenhum

experimento avaliando alta temperatura e alto teor de Al foi relatado em plantas de feijão. Assim, testou-se a hipótese de que os estresses por Al e alta temperatura aumentam a absorção do Al em cultivares de feijão, alterando o acúmulo de nutrientes e as características anatômicas, comprometendo o desenvolvimento das plantas. O presente estudo objetivou caracterizar os efeitos da toxicidade do Al e da alta temperatura na nutrição mineral, anatomia foliar e morfologia de diferentes cultivares de feijão.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Cultivo das plantas e Imposição dos tratamentos

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento climatizada (Instalafrio, Pinhais, PR, Brasil), com condições controladas de umidade relativa (~65%), irradiância (~650  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e temperatura (25/20°C ou 40/25°C, dia/noite) no Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano de Educação, Ciência e Tecnologia (IF Goiano), Campus Rio Verde, Goiás, Brasil. Plantas de feijão Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de feijão comum (*P. vulgaris*, cultivares BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139) foram cultivadas em vasos de polietileno (6L) contendo solo ácido com alta concentração de alumínio (Al). A análise química inicial do solo indicou pH de 3,8 e teor de Al de 1,14  $\text{cmol}_e/\text{dm}^3$ , sendo este utilizado sem correção do pH nos tratamentos com toxicidade por Al. O solo utilizado no tratamento referencial, naturalmente com teor elevado de Al, foi incubado com 1,59 g de hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) por  $\text{dm}^{-3}$  durante 20 dias antes do plantio, a fim de indisponibilizar o Al presente. A adubação consistiu dos seguintes nutrientes ( $\text{mg}/\text{dm}^{-3}$  de solo): 56 de N; 318 de fosfato monoamônico (MAP); 110 de nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ); 213 de nitrato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ); 6,43 de sulfato de ferro ( $\text{FeSO}_4$ ); 10,98 de cloreto de manganês ( $\text{MnCl}_2$ ); 4,37 de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ); 0,23 de molibdato de amônio ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ ); 14,65 de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4$ ). A mesma quantidade de nutrientes foi adicionada ao solo com Al, que recebeu ainda uma correção para Ca através da adição de uma solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) para compensar o  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  adicionado ao solo do referencial.

Foram realizados dois experimentos, nas temperaturas diurnas 25°C ou 40°C, contendo, em ambos os experimentos, plantas cultivadas em solo com ou sem Al disponível, obtendo os seguintes tratamentos: referencial (REF; 25°C, 0,05  $\text{cmol}_e/\text{dm}^3$

Al), alto teor de Al (Al; 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> Al); alta temperatura (AT; 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> Al) e com os estresses combinados (AT+Al; 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> Al). O estresse térmico foi imposto após 30 dias de plantio, com duração de oito (8) dias e ocorreu mediante o aumento gradual da temperatura ambiente, a partir das 08h até atingir 40°C às 11h. A temperatura de 40°C foi mantida até as 16h diariamente, sendo reduzida gradualmente até retornar ao valor de 20°C, por volta das 18h, permanecendo assim até o novo ciclo no dia seguinte. As condições de irradiância (~650 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e umidade relativa (~65%) da câmara de crescimento foram mantidas constantes para os dois experimentos. As coletas de material para a determinação do conteúdo de nutrientes e Al, da taxa de liberação de eletrólitos, anatomia foliar e morfologia foram realizadas aos 38 dias de cultivo, para ambos os experimentos, durante o início do estágio reprodutivo.

## 2.2 Determinação do conteúdo de Al e nutrientes

Para a quantificação de nutrientes e do conteúdo de Al, as folhas foram previamente secas e moídas em moinho do tipo Willey com uma peneira de 20 mesh. O material vegetal foi extraído por digestão nitroperclórica para determinação do conteúdo de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), enxofre (S) e boro (B); e por digestão com ácido sulfúrico, pelo método Kjeldahl, para quantificação de nitrogênio (N) (Embrapa, 2009). Os teores de P, B e S foram determinados por colorimetria utilizando de um espectrofotômetro UV-VIS (Modelo Evolution 60S, Thermo Scientific, Madison –EUA). Ca, Mg, Cu, Fe, Zn e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer, Modelo Analyst 800, San Jose, EUA). O K foi determinado por fotometria de chama (Analyser, Modelo 910). O teor de Al foi determinado em Espectrômetro de Emissão de Plasma (Perkin Elmer, Modelo Optima 8300 DVO, EUA). O conteúdo dos nutrientes e Al foi calculado considerando o teor dos elementos e o peso seco total das folhas de cada planta.

## 2.3 Análises em microscopia de luz

Para observação da estrutura foliar e avaliação micromorfométrica, foram coletadas amostras da região mediana da última folha totalmente expandida de cada repetição. Inicialmente, as amostras de folhas foram fixadas em Karnovsky (1965) por 24 horas e, posteriormente, desidratadas em série etílica e incluídas em 2-

hidroxietilmetacrilato (Historesin, Leica, Heidelberg, Alemanha). As amostras foram seccionadas transversalmente (5  $\mu\text{m}$  de espessura) em micrótomo rotativo (Logen Scientific, Modelo 1508R, China), coradas com azul de toluidina 0,05 % em tampão fosfato (0,1 M, pH 6,8) (O'brien et al., 1964) e montadas com bálsamo do Canadá, para análise. Foram realizadas observações morfoanatômicas das epidermes adaxiais e abaxiais, parênquimas paliçádico e esponjoso, e mesofilo, utilizando um microscópio (Olympus, modelo BX61, Tóquio, Japão) e as imagens foram obtidas por meio de uma câmera digital CCD (DP-72, Olympus) acoplada ao microscópio. As avaliações da micromorfometria foram realizadas a partir das imagens, utilizando o software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA), a partir de cinco mensurações, para cada estrutura avaliada, por repetição.

#### 2.4 Análises morfológicas

Foram realizadas as mensurações da altura da planta (AP, cm), número de nós (NN) e trifólios (NT), volume de raiz (VR, mL) e comprimento radicular (CR, cm). O volume radicular (VR) foi obtido pelo deslocamento de volume de água, em proveta graduada, conforme descrito por Rossiello et al. (1995). Para a obtenção da massa seca das folhas (MSF, g), massa seca dos caules (MSC, g) e massa seca das raízes (MSR, g), as partes das plantas foram separadas e secas em estufa de circulação forçada de ar (65°C), até peso constante.

#### 2.5 Análises estatísticas

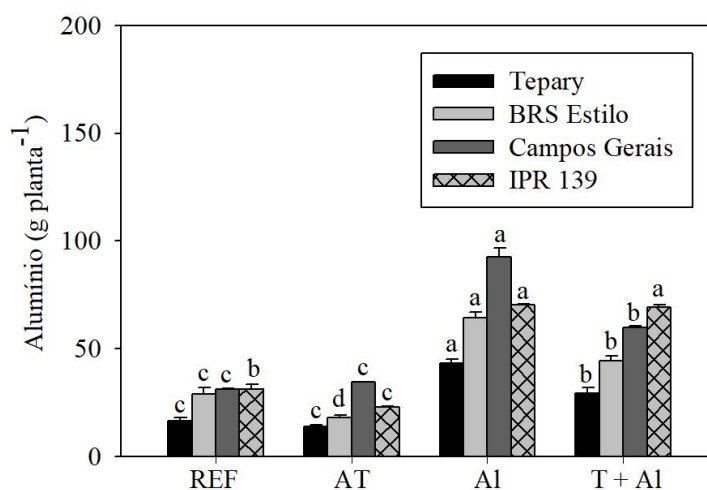
O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições, sendo quatro cultivares de feijão e quatro tratamentos. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade, homogeneidade dos erros, análise de variância e ao teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) por meio do software estatístico SISVAR. Foram também calculadas as porcentagens de alterações ocasionadas pelos tratamentos impostos, em comparação ao seus respectivos referenciais (Apêndice, tabelas 1, 2 e 3).



### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Conteúdo de alumínio (Al)

Todas as cultivares apresentaram acúmulo de Al quando submetidas aos estresses por Al e AT+Al, sendo os maiores incrementos observados nas cultivares Tepary e Campos Gerais, submetidas ao tratamento Al (Figura 1). O tratamento combinado (AT+Al) promoveu redução no conteúdo de Al nas cultivares Tepary, BRS Estilo e Campos Gerais, em relação ao tratamento Al.



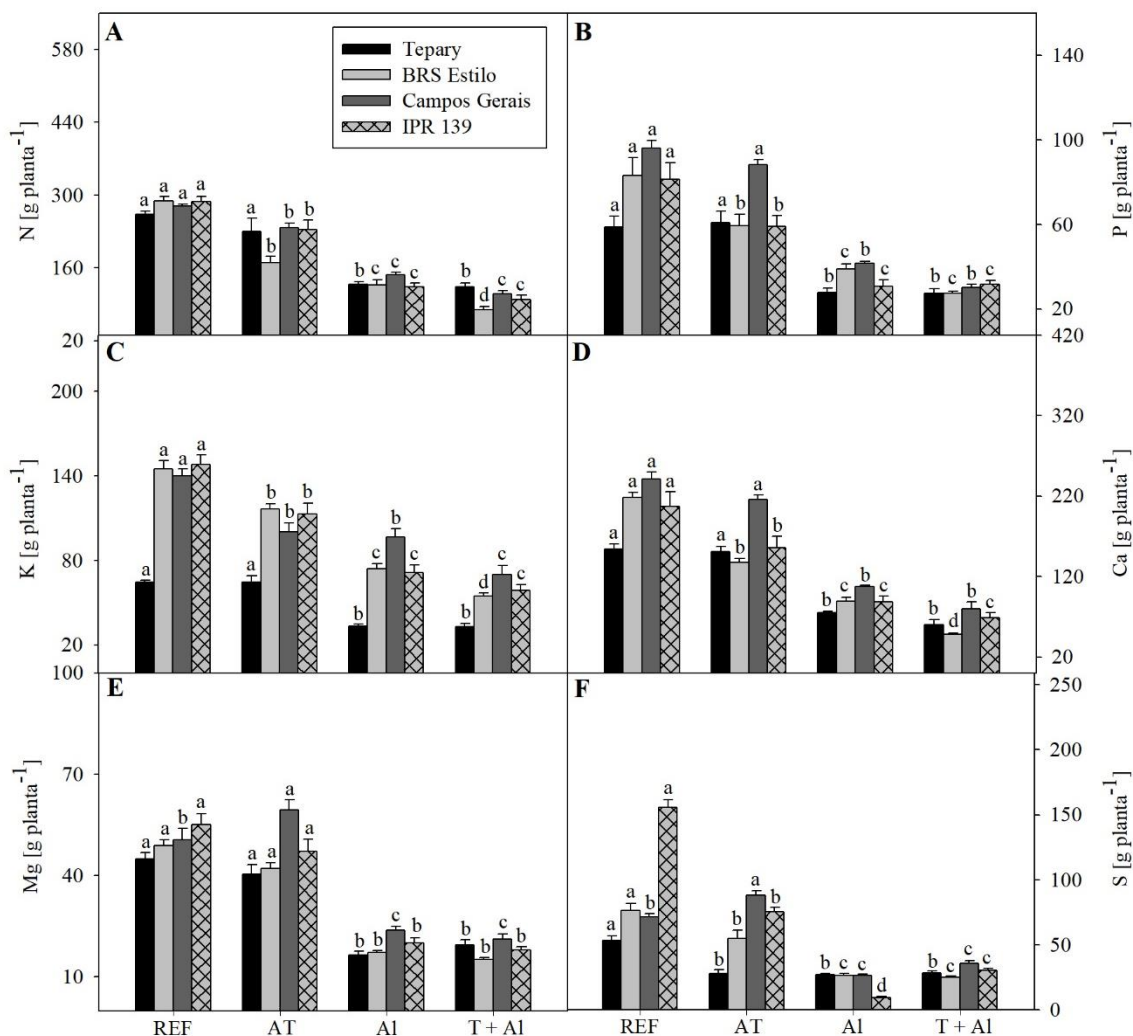
**Figura 1.** Conteúdo de alumínio (Al) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

#### 3.2 Conteúdo de macronutrientes

Os efeitos adversos dos estresses térmico, Al e combinado no conteúdo de macronutrientes são mostrados na Figura 2. No geral, todas as cultivares de *P. vulgaris* apresentaram reduções no conteúdo de macronutrientes sob os diferentes estresses impostos, em relação ao referencial. Apenas na cultivar BRS Estilo, o tratamento AT+Al foi mais prejudicial para o conteúdo dos macronutrientes N, K e Ca quando comparado ao tratamento Al. As maiores reduções no conteúdo de macronutrientes, sob os diferentes estresses, foram observadas para BRS Estilo e IPR 139 (Figura 2).

Ainda, as cultivares de feijão submetidas aos tratamentos Al e AT+Al apresentaram efeitos mais acentuados no conteúdo de macronutrientes quando

comparados ao tratamento AT. Foram observadas reduções significativas (acima de 30%) no conteúdo de macronutrientes em todas cultivares expostas ao tratamento Al (Figura 2). Dentre as cultivares avaliadas, a Campos Gerais apresentou a menor redução nos conteúdos de K e Mg sob estresse por Al (Apêndice, Tabela 1). A toxicidade do Al levou à redução de 93% no conteúdo de S (Figura 2F) para IPR 139, ao passo que a cultivar Tepary apresentou a menor redução para esse elemento. A cultivar BRS Estilo reduziu significativamente o conteúdo de N, K e Ca quando tratada com AT+Al, em relação ao tratamento referencial (Figura 2A, C, D).

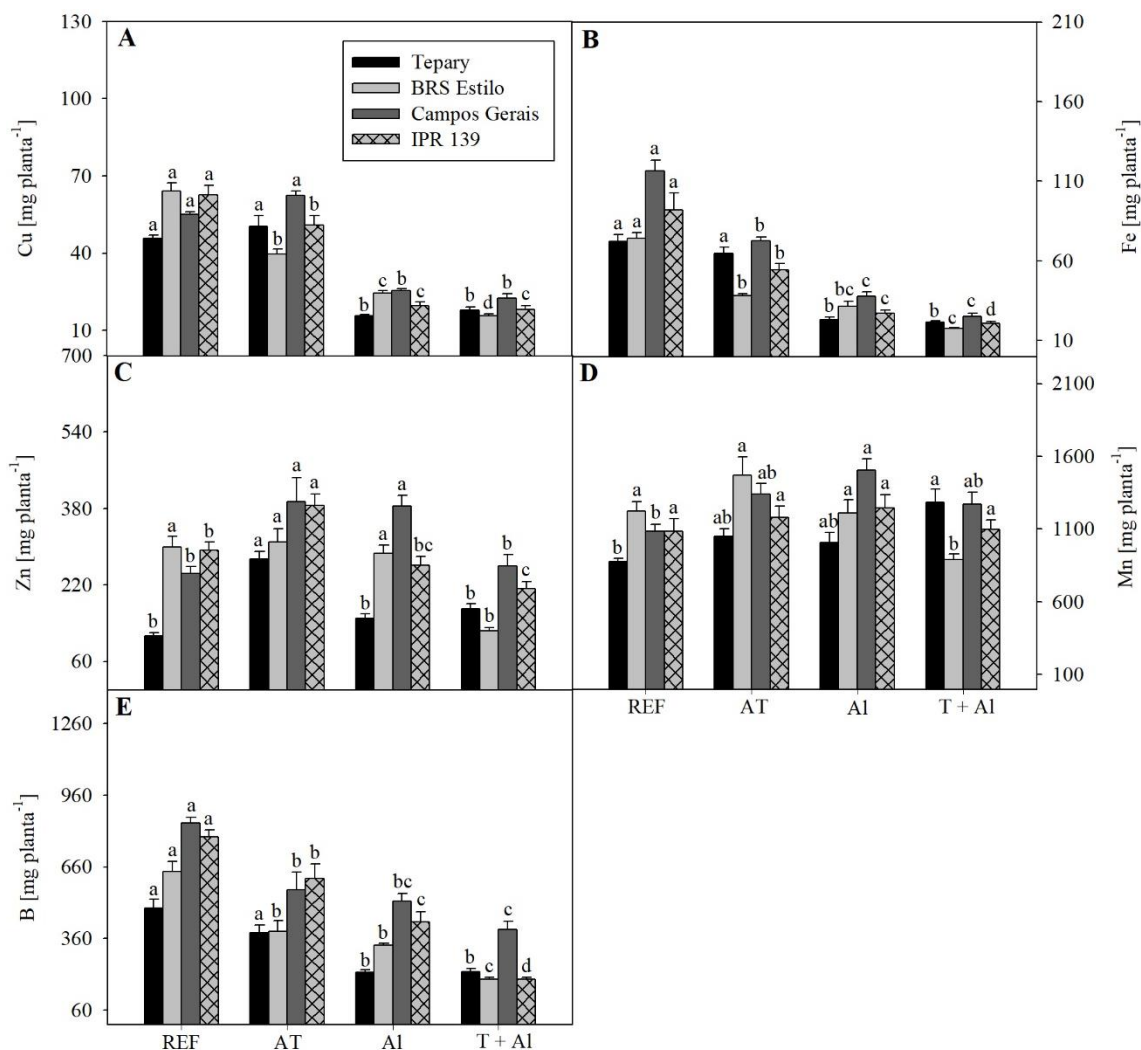


**Figura 2.** Conteúdo dos macronutrientes nitrogênio (N, A), fósforo (P, B), potássio (K, C), cálcio (Ca, D), magnésio (Mg, E) e enxofre (S, F) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

### 3.3 Conteúdo de micronutrientes

A cultivar Tepary não apresentou diferenças no conteúdo de Cu, Fe e B quando exposta à alta temperatura (AT) (Figura 3A, B, E). Entretanto, foram observadas nas demais cultivares reduções em até 47% no conteúdo de Fe (BRS Estilo) (Figura 3B). O tratamento Al promoveu reduções significativas no conteúdo de Cu, Fe, S e B em todas as cultivares avaliadas, sendo mais acentuadas nas cultivares BRS Estilo e IPR 139 (Figura 3).

Por outro lado, foram observados incrementos significativos no conteúdo de Zn e Mn, em todas as cultivares avaliadas quando expostas ao tratamento AT, de forma mais acentuada na cultivar Tepary (Figura 3C, D). Houve ainda incrementos no conteúdo de Mn nas cultivares Campos Gerais e Tepary quando expostas aos tratamentos Al e AT+Al, respectivamente (Figura 3D). As cultivares BRS Estilo e IPR 139 demonstraram maior sensibilidade ao tratamento AT+Al, em relação ao tratamento Al.



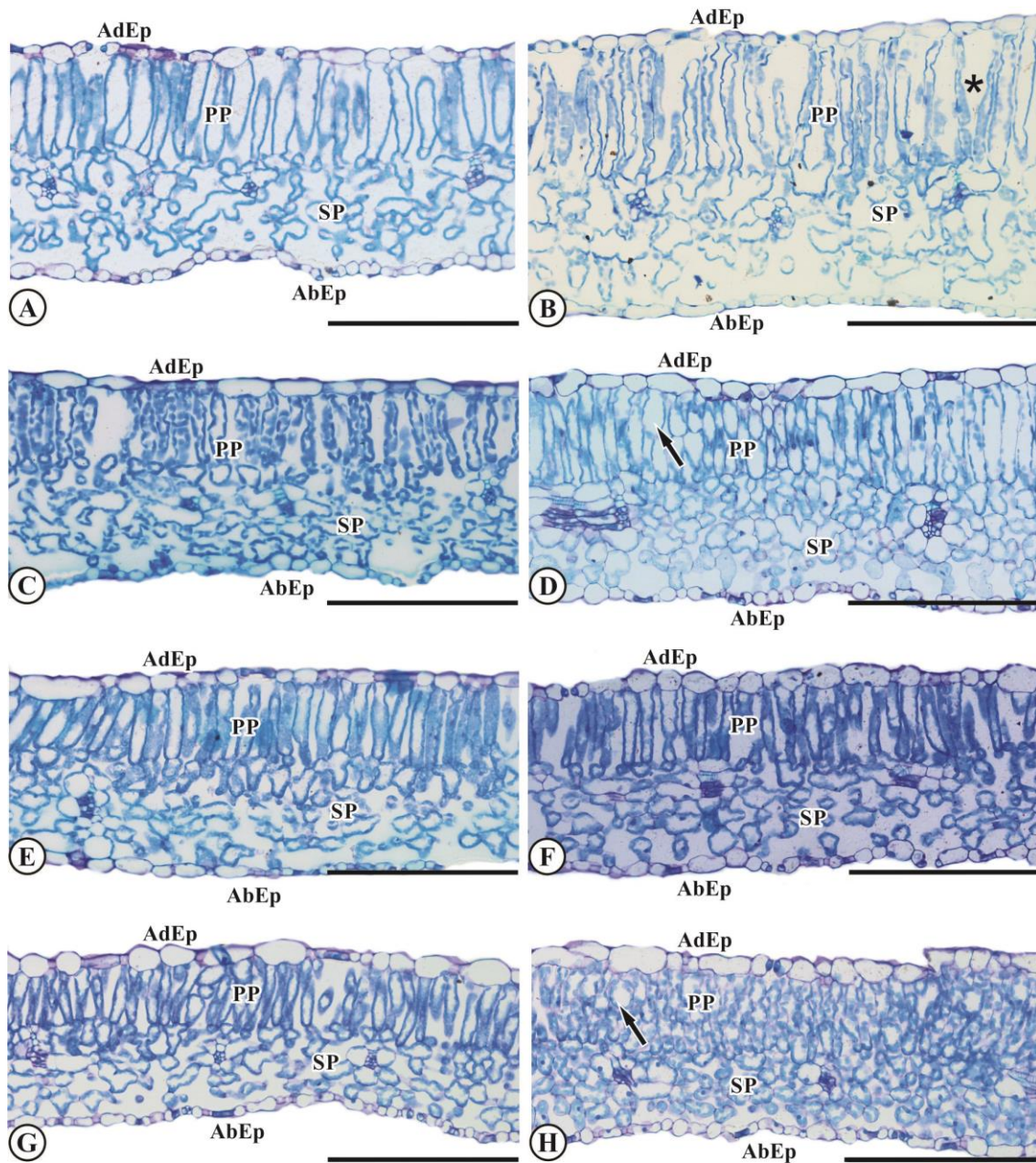
**Figura 3.** Conteúdo dos micronutrientes cobre (Cu, A), ferro (Fe, B), zinco (Zn, C), manganês (Mg, D), e boro (B, E) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

### 3.4 Anatomia e micromorfometria foliar

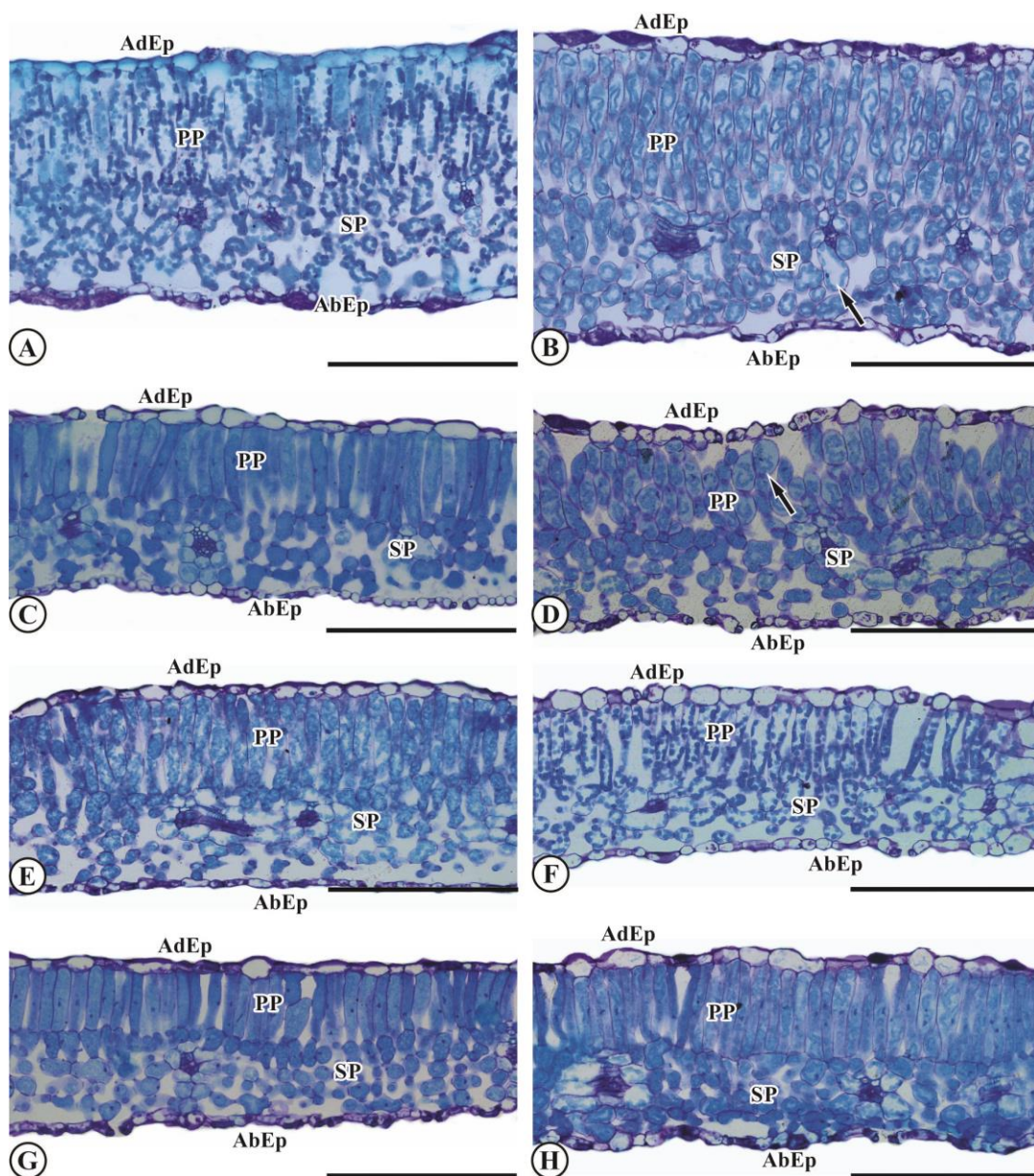
As folhas das plantas de feijão possuem epiderme unisseriada com células das faces adaxial e abaxial com formas e tamanhos variados (tratamento referencial). O mesofilo possui organização dorsiventral, sendo o parênquima paliçádico constituído por uma camada de células justapostas apresentando espaço intercelular mediano, e o parênquima esponjoso com quatro a cinco camadas de células isodiamétricas de formato irregular e com espaços intercelulares (Figura 4A, C, E e G). Quando expostas no tratamento Al, observou-se colabamento celular na cultivar Tepary (Figura 4B). As

cultivares BRS Estilo (parênquima paliçádico) (Figura 4D) e IPR 139 (paliçádico e lacunoso) (Figura 4H), expostas ao alto teor de Al apresentaram células maiores, além de uma desorganização do parênquima paliçádico, com aumento da camada de células.

O tratamento com alta temperatura (AT) ocasionou inchaço das células do parênquima paliçádico e a redução dos espaços intercelulares em todas as cultivares avaliadas (Figura 5A, C, E, G). Observou-se células anormais nos parênquimas esponjoso e paliçádico, nas cultivares Tepary e BRS Estilo, respectivamente (Figura 5B, D), quando expostas ao tratamento AT+Al.



**Figura 4.** Anatomia foliar da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139. Cultivares Tepary (A, B), BRS Estilo (C, D), Campos Gerais (E, F) e IPR 139 (G, H) expostas aos tratamentos referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (A, C, E, G) e alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (B, D, F, H). Asterisco indica colapamento celular e setas indicam ocorrência de células anormais. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barra de escala 200 μm.

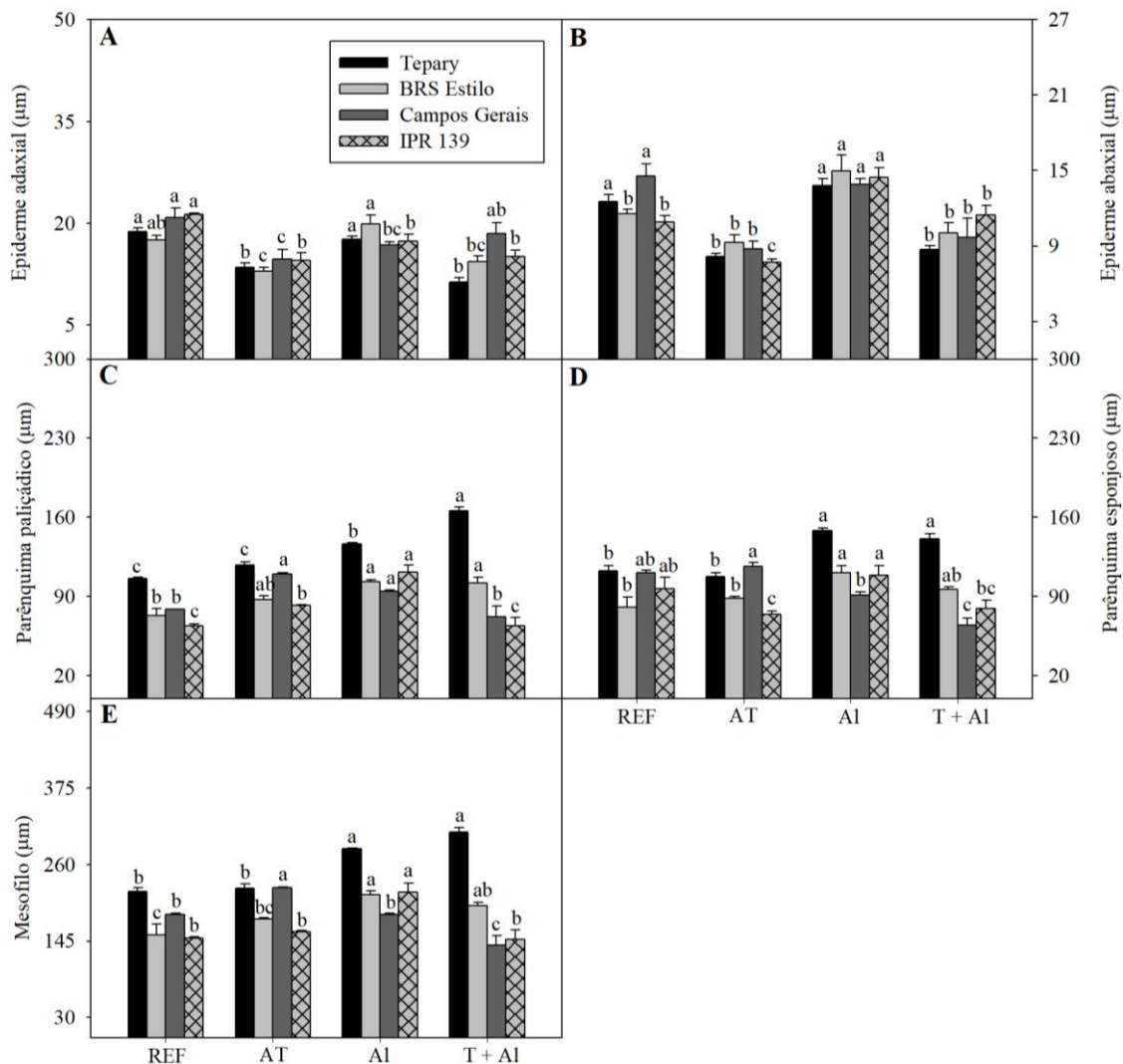


**Figura 5.** Anatomia foliar da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139. Cultivares Tepary (A, B), BRS Estilo (C, D), Campos Gerais (E, F) e IPR 139 (G, H) expostas aos tratamentos alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (A, C, E, G) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) (B, D, F, H). (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barra de escala 200 μm.

Alterações mais acentuadas foram observadas na epiderme adaxial das plantas cultivadas nos tratamentos AT e AT+Al (Figura 6A). Na cultivar Tepary houve redução significativa na espessura das epidermes adaxial e abaxial, quando expostas ao AT+Al e AT, respectivamente. A epiderme abaxial foi ainda alterada na cultivar Campos Gerais sob AT+Al (Figura 6B). Ocorreram aumentos no parênquima paliçádico (Figura 6C), parênquima esponjoso e mesofilo (Figura 6D, E) das cultivares Tepary e BRS Estilo



tratadas com Al e AT+Al. A maior alteração, porém, foi visualizada na IPR 139, em que houve aumento expressivo do parênquima paliçádico sob estresse por Al.

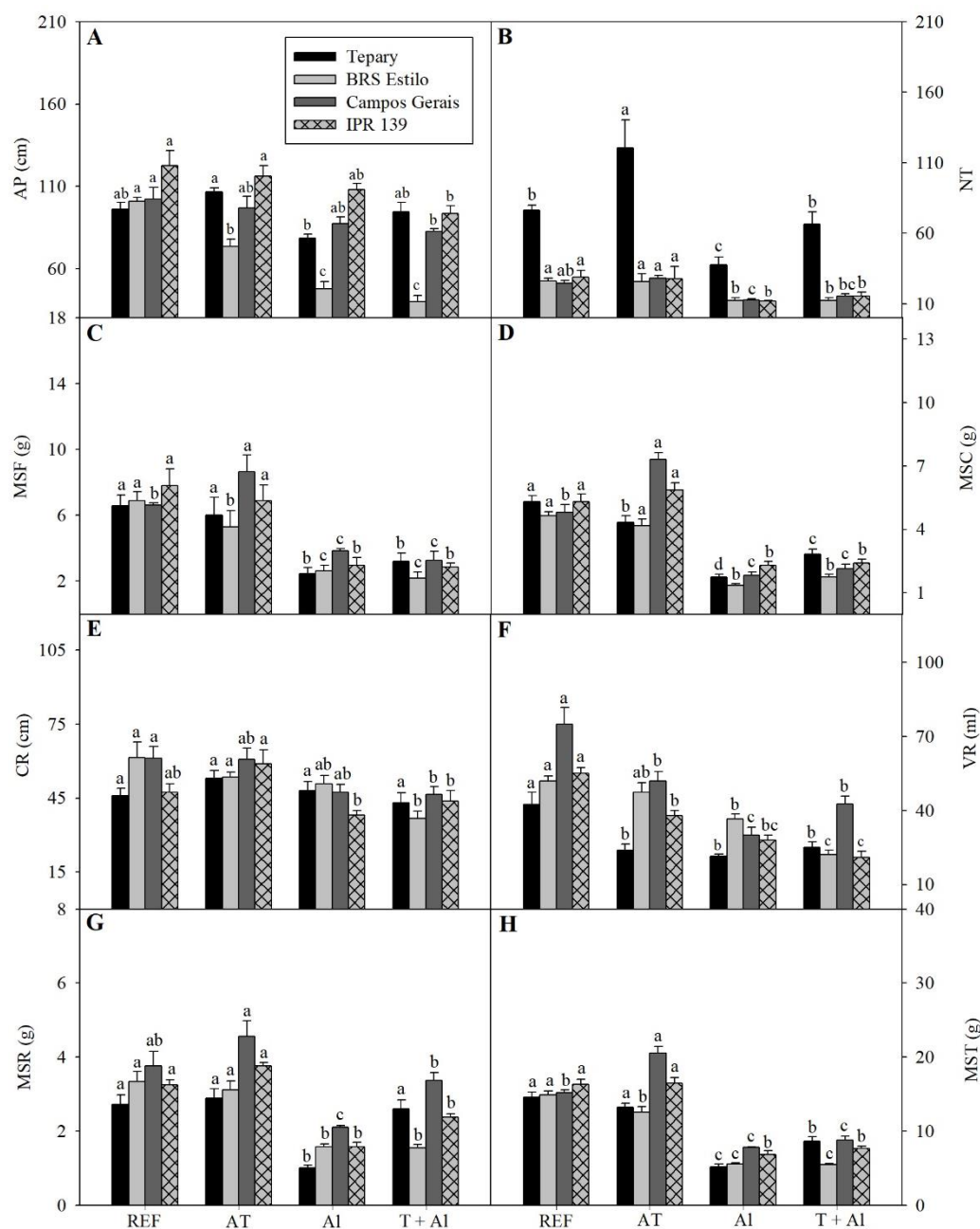


**Figura 6.** Espessura da epiderme adaxial (A), espessura da epiderme abaxial (B), espessura do parênquima paliçádico (C), espessura do parênquima esponjoso (D) e espessura do mesofilo (E) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

### 3.5 Características biométricas

Observou-se redução significativa na altura das plantas (AP) da cultivar BRS Estilo, em todos os tratamentos avaliados e nas cultivares Campos Gerais e IPR 139, apenas no tratamento AT+Al (Figura 7A). O número de trifólios (NF) aumentou na cultivar Tepary exposta à AT, porém reduziu nas cultivares Tepary, Campos Gerais e

IPR 139 quando submetidas ao tratamento com alto teor de Al (Figura 7B). Não foi observada alteração na MSF e MST da cultivar IPR 139 exposta a AT (Figs. 7C, H). Essas características, no entanto, foram reduzidas na cultivar BRS Estilo e aumentadas na cultivar Campos Gerais sob cultivo em AT. A MSF, MSC, MSR, MST e o VR foram significativamente reduzidos em todas as cultivares expostas ao alto teor de Al, independente da temperatura aplicada (Figs 7C-D, F-H). O comprimento radicular foi menos sensível do que o volume radicular, sendo reduzido apenas nas cultivares BRS Estilo e Campos Gerais tratadas com AT+Al (Figs. 7E-F).



**Figura 7.** Altura das plantas (AP, A), número de trifólios (NT, B), massa seca das folhas (MSF, C), massa seca do caule (MSC, D), comprimento de raiz (CR, E), volume de raiz (VR, F), massa seca da raiz (MSR, G) e massa seca total (MST, H) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (AI, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+AI, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, dentro de cada cultivar de feijão (P < 0,05).

#### 4. DISCUSSÃO

As plantas estão expostas aos diversos fatores de estresse, podendo esses, de forma combinada, exacerbar os danos causados. Assim, entender as respostas das plantas em situações de estresses abióticos combinados é fundamental para fornecer uma base para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de produção vegetal. Solos ácidos, com alto teor de Al, são encontrados em diferentes regiões do mundo. No entanto, o aumento na temperatura global tem sido gradual, e pode ocasionar severos danos nas plantas cultivadas expostas à toxicidade por Al e estresse térmico simultaneamente.

O acúmulo de Al nas plantas demonstrou ser diretamente relacionado com a disponibilidade do elemento no solo e a combinação de estresses (AT+Al) pode afetar a absorção desse elemento. Plantas tolerantes ao Al, podem apresentar mecanismos de exclusão, impedindo a entrada ou retendo o elemento nas raízes, reduzindo a sua translocação e danos na parte aérea; ou mesmo mecanismos internos como a inativação e armazenamento do Al em formas não tóxicas nas folhas (Chen et al. 2016; Singh et al., 2017). O maior acúmulo de Al nas folhas da cultivar Campos Gerais, associado aos menores danos, visualizados na anatomia foliar, demonstra a ocorrência de um mecanismo interno de tolerância ao Al. O estresse por Al foi preponderante na redução do conteúdo de nutrientes nas folhas. A ocorrência de danos radiculares pela alta concentração de Al no solo, pode alterar as proteínas e/ou transportadores de absorção de nutrientes (Singh et al., 2017). As raízes geralmente são os órgãos mais sensíveis ao Al, que provoca rápida inibição do alongamento do eixo principal e a restrição do desenvolvimento da raiz lateral, levando a um sistema radicular curto e robusto (Singh et al., 2017), comprometendo a absorção dos nutrientes. O estresse térmico, apesar de pouco interferir no acúmulo de biomassa, reduziu a taxa de absorção dos nutrientes N, P, K, Ca e Mg nas plantas de feijão, como também observado em *Andropogon gerardii* (Mainali et al., 2014) e *Solanum lycopersicum* (Giri et al., 2017).

Os danos no sistema radicular, ocasionados pelo Al, resultam em menor área de exploração no solo, com conseqüentes reduções na absorção de nutrientes e água no solo (Yang et al., 2013). Em plantas de *Citrus sinensis*, tolerantes ao Al, as concentrações de N, P, K, Ca e Mg foram menos afetadas do que na espécie sensível *C. grandis* (Guo et al., 2018). Como resultado, a capacidade das plantas de adquirir nutrientes na presença de alta concentração de Al, especialmente K, P, Ca e Mg, tem

sido descritas como importantes parâmetros para caracterizar a tolerância diferencial de espécies vegetais (Steiner et al., 2012), demonstrando que a cultivar Campos Gerais pode apresentar tolerância nutricional parcial ao Al. Essa cultivar apresentou menor redução no acúmulo de K e Mg, sendo o K extremamente importante para o balanço osmótico e para a expansão celular (Silva et al., 2010). A tolerância de plantas de trigo ao Al foi correlacionada com maiores níveis de Ca e Mg (Moustakas et al., 2016). O S, ainda, tem sido descrito como aliviador da toxicidade do Al (Guo et al., 2017), o qual reduziu de forma proeminente na cultivar IPR 139 e teve menor alteração cultivar Tepary. Dentre os micronutrientes avaliados, observou-se o aumento no conteúdo foliar de Zn e Mn nas plantas de feijão. De acordo com Noulas et al. (2018), o aumento da temperatura do solo aumenta a taxa de difusão de Zn a partir dos colóides do solo para as raízes das plantas e aumenta as taxas de mineralização desse nutriente a partir da matéria orgânica. Ainda, o aumento nos conteúdos de Zn e Mn, em solos com alto teor de Al, devem-se ao aumento na disponibilidade desses elementos pelo baixo pH, característico nessas condições (Emamverdian et al., 2015).

Associado com as alterações no acúmulo de nutrientes nas folhas, a alta concentração de Al no solo ocasionou efeitos deletérios no crescimento das plantas de feijão, o que também foi reportado em plantas de crambe (Rosmaninho et al., 2019). As alterações celulares, observadas pela anatomia das folhas de feijão expostas ao Al, podem ter comprometido o funcionamento da captura e absorção tanto da luz, quanto do dióxido de carbono, afetando, assim o crescimento da planta (Yang et al., 2013).

## 5. CONCLUSÕES

Os estresses impostos desencadearam reduções no conteúdo de nutrientes de todas cultivares avaliadas, as quais foram mais pronunciadas nos tratamentos Al e AT+Al. Os efeitos negativos do Al foram preponderantes nas características anatômicas e no acúmulo de nutrientes, em relação ao estresse térmico isolado, o que comprometeu, de forma severa, o crescimento das plantas de feijão. As cultivares BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao estresse combinado (AT+Al), em relação ao tratamento Al.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUTARE L., RAO I., LEPOIVRE P., POLANIA J., CAJIAO C., CUASQUER J., BEEBE S. New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined stress factors of aluminium toxicity and progressive soil drying. **Euphytica**, v.181, p.385-404, 2011. Doi: 10.1007/s10681-011-0468-0.

CHEN, Z.C.; LIAO, H. Organic acid anions: An effective defensive weapon for plants against aluminum toxicity and phosphorus deficiency in acidic soils. *J Genet Genomics*, v.43, n.11, p.631-638, 2016. Doi: 10.1016/j.jgg.2016.11.003.

DIAZ, L.M.; RICAURTE, J.; TOVAR, E.; CAJIAO, C.; TERAN, H.; GRAJALES, M.; POLANÍA, J.; RAO, I.; BEEBE, S.; RAATZ, B. QTL analyses for tolerance to abiotic stresses in a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population. **PLoS ONE**, v.13, n.8, 2018. Doi: e0202342.

EMAMVERDIAN A; DING, Y.; MOKHBERDORAN, F.; XIE, Y. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. **Sci World J**. v.2015, ID.756120, 18p., 2015. Doi: 10.1155/2015/756120.

[Embrapa] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2009. Silva FC. (Ed.). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2ª ed. Brasília (DF): Embrapa Informação Tecnológica, 627p.

GIRI, A.; HECKATHORN, S.; MISHRA, S.; KRAUSE, C. Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and -assimilation proteins in tomato roots. **Plants**, v.6, n.6, 2017. Doi: 10.3390.

GORAYA, G.K.; KAUR, B.; ASTHIR, B.; BALA, S.; KAUR, G.; FAROOQ, M. Rapid injuries of high temperature in plants. **J Plant Biol.**, v.60, n.4, p.298–305, 2017. Doi: 10.1007/s12374-016-0365-0.

GUO, P.; LI, Q.; QI, Y.; YANG, L.; YE, X.; CHEN, H.; CHEN, L. Sulfur-mediated-alleviation of aluminum-Toxicity in *Citrus grandis* seedlings. **Int J Mol Sci.**, v.18, n.12, p.2570, 2017. Doi: 10.3390/ijms18122570.

GUO, P.; QI, Y.; CAI, Y.; YANG, T.; YANG, L.; HUANG, Z.; CHEN, L. Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two Citrus species differing in aluminum tolerance. **Tree Physiol.**, v.38, n.10, p.1548-1565, 2018. Doi: 10.1093/treephys/tpy035.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report.** Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 2014. 151 pp.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **J Cell Biol.**, v.27, n.2, 1A-149A, 1965.

KOPITTKE, P.M.; MCKENNA, B.A.; KARUNAKARAN, C.; DYNES, J.J.; ARTHUR, Z.; GIANONCELLI, A.; KOUROUSIAS, G.; MENZIES, N.W.; RYAN, P.R.; WANG, P.; GREEN, K.; BLAMEY, F.P.C. Aluminum complexation with malate within the root apoplast differs between aluminum resistant and sensitive wheat lines. **Front Plant Sci.**, v.8, n.1377, 2017. Doi: 10.3389/fpls.2017.01377.

MAINALI, K.P.; HECKATHORN, S.A.; WANG, D.; WEINTRAUB, M.N.; FRANTZ, J.M.; HAMILTON, E.W. Impact of a short-term heat event on C and N relations in shoots vs. roots of the stress-tolerant C4 grass, *Andropogon gerardii*. **J Plant Physiol.**, v.171, p.977–985, 2014. Doi: 10.1016/j.jplph.2014.04.006.

MARIAS, D.E.; MEINZER, F.C.; STILL, C. Impacts of leaf age and heat stress duration on photosynthetic gas exchange and foliar nonstructural carbohydrates in *Coffea Arabica*. **Ecol Evol.**, v.7, n.4, p.1297-1310, 2017. Doi: 10.1002/ece3.2681.

MOUSTAKAS, J.; OUZOUNIDOU, G.; BAYÇU, G.; MOUSTAKAS M. Aluminum resistance in wheat involves maintenance of leaf Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> content, decreased lipid

peroxidation and Al accumulation, and low photosystem II excitation pressure. **Biometals**. v.29, n.4, p.611-623, 2016. Doi: 10.1007/s10534-016-9938-0.

NOULAS, C.; TZIOUVALEKAS, M.; KARYOTIS, T. Zinc in soils, water and food crops. **J Trace Elem Med Biol.**, v.49, p.252-260, 2018. Doi: 10.1016/j.jtemb.2018.02.009.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue. **Protoplasma**, v.59, n.2, p.368–373, 1964.

RODRIGUES A.A.; VASCONCELOS-FILHO, S.C.; RODRIGUES, C.L.; RODRIGUES, D.A.; SILVA, G.P.; SALES, J.F.; NASCIMENTO; K.J.T.; GUIMARÃES, E.M.; REHN, L.S. Aluminum influence on *Hancornia speciosa* seedling emergence, nutrient accumulation, growth and root anatomy. **Flora**, v.236, p.9-14, 2017. Doi: 10.1016/j.flora.2017.09.008.

ROSMANINHO, L.B.C.; DIAS, L.A.S; DA SILVA, M.F.; VASCONCELOS, A.A.; SANTOS, W.O.; PEREZ, C.E.A.; VERGUTZ, L.; CARDOSO, L.G. Performance of crambe submitted to aluminum Stress: An important oilseed plant. **J Agric Sci.**, v.11, n.2, p.454-464, 2019. Doi: 10.5539/jas.v11n2p454.

ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétrico e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesqui agropec bras.**, v.30, n.5, p.633-638, 1995.

SILVA, S.; PINTO-CARNIDE, O.; MARTINS-LOPES, P.; MATOS, M.; GUEDES-PINTO, H.; SANTOS, C. Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in an Al sensitive vs. tolerant wheat. **Environ Exp Bot.**, v.68, n.1, p.91–98, 2010. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.10.005.

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. **Environ Exp Bot.**, v.137, p.177–193, 2017. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.01.005.



STEINER, F.; ZOZ, T.; PINTO-JUNIOR, A.S.; CASTAGNARA, D.D.; DRANSKI, J.A.L. Effects of aluminum on plant growth and nutrient uptake in young physic nut plants. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1779-1788, 2012. Doi: 10.5433/1679-0359.2012v33n5p1779.

TRAUB, J.; PORCH, T.; NAEEM, M.; URREA, C.A.; AUSTIC, G.; KELLY, J.D.; LOESCHER, W. Screening for heat tolerance in *Phaseolus* spp. using multiple methods. **Crop Sci.**, v.58, n.6, p.2459-2468, 2018. Doi: 10.2135/cropsci2018.04.0275.

YANG, Z.; RAO, I.M.; HORST, W.J. Interaction of aluminium and drought stress on root growth and crop yield on acid soils. **Plant Soil**, v.372, n.1-2, p.3–25, 2013. Doi: 10.1007/s11104-012-1580-1.

## 7. APÊNDICE

**Tabela 1.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial do conteúdo dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e micronutrientes cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mg, D), e boro (B, E) nas folhas da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRAT.	CULTIVARES	N	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Zn	Mn	S	B	Al
AT	Tepary	-15,9A 1,5	+9,3A 1,6	+2,5A 0,4	-5,7A 0,7	-10,5B 1,1	+6,9A 1,3	-14,6A 2,5	+148,9A 28,0	+24,2AB 2,7	-47,2C 4,1	-21,6A 3,4	-16,0AB 2,4
	BRS Estilo	-41,1B 4,0	-27,1C 3,2	-18,4B 1,4	-36,9B 2,2	-16,9B 0,5	-37,6C 4,7	-47,7B 4,1	+6,5C 1,0	+28,6A 1,3	-27,0B 1,4	-37,5B 4,1	-36,7B 0,6
	Campos Gerais	-14,7A 1,9	-11,1B 1,8	-28,0B 4,3	-12,8A 1,3	+18,4A 6,3	+13,0A 1,8	-36,8B 3,4	+53,1B 5,5	+24,9AB 3,8	+31,2A 2,7	-34,4AB 4,9	+11,6A 1,3
Al	IPR 139	-25,6A 4,3	-28,7C 2,1	-27,5B 2,8	-30,8B 1,7	-12,0B 1,6	-19,0B 3,1	-39,2B 4,9	+35,3BC 3,5	+14,4B 1,3	-51,4C 3,0	-22,1A 2,0	-26,7B 2,2
	Tepary	-51,0A 2,7	-51,8A 3,5	-48,4B 1,7	-50,7A 3,3	-63,0AB 3,3	-65,9B 1,1	-67,7AB 2,5	+36,4A 5,3	+17,9B 1,5	-49,1A 2,8	-54,5B 2,2	+159,8B 9,5
	BRS Estilo	-55,9A 4,0	-51,4A 5,8	-48,4B 3,3	-59,0A 2,1	-64,8B 0,7	-60,9AB 3,3	-57,5A 3,3	-3,3B 0,6	+2,6C 0,3	-64,3B 3,6	-47,3AB 2,4	+122,0C 7,3
AT+Al	Campos Gerais	-47,4A 1,4	-56,6A 1,8	-30,8A 3,0	-55,4A 2,1	-52,4A 3,0	-53,6A 1,1	-66,9AB 3,1	+67,1A 5,2	+45,3A 3,7	-62,4B 1,6	-38,9A 2,3	+197,8A 13,9
	IPR 139	-56,9A 1,7	-61,3A 4,4	-51,8B 3,1	-55,6A 6,0	-63,2B 3,0	-68,1B 3,5	-69,7B 1,6	-8,7B 1,2	+19,7B 1,8	-93,9C 0,8	-45,3AB 4,9	+128,3B C
	Tepary	-52,8A 4,0	-52,8A 3,5	-48,6A 4,0	-60,5A 4,8	-55,8A 4,6	-61,1AB 3,0	-69,9A 0,7	+44,4A 5,0	+46,9A 5,2	-46,0A 3,9	-53,4A 5,1	+75,4C 6,6
AT+Al	BRS Estilo	-72,2C 2,3	-65,8AB 3,7	-62,4B 0,9	-77,8C 1,2	-68,9B 1,5	-75,4C 1,7	-76,0A 1,2	-61,4C 0,5	-26,3D 4,5	-66,8B 2,5	-69,7B 2,5	+51,7BC 5,5
	Campos Gerais	-60,5AB 2,1	-68,4C 1,7	-50,0A 4,3	-67,0AB 2,4	-57,3AB 4,2	-59,1A 2,3	-77,8A 3,2	-6,0B 0,8	+20,0B 1,9	-50,0A 3,3	-52,7A 4,0	+92,6AB 3,2
	IPR 139	-65,3BC 3,2	-59,0AB 5,4	-59,7AB 3,8	-65,0A 5,4	-66,5AB 3,4	-70,3BC 3,1	-75,5A 4,0	-26,7B 1,1	+4,6C 0,2	-80,5C 0,9	-75,8B 1,2	+125,3A 18,5

**Tabela 2.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da espessura da epiderme adaxial (EpAd), espessura da epiderme abaxial (EpAb), espessura do parênquima paliçádico (PP), espessura do parênquima esponjoso (PE) e espessura do mesofilo (E) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRATAMENTO	CULTIVAR	EpAd	EpAb	PP	PE	Mesofilo
AT	Tepary bean	-30,6A 3,0	-34,0B 4,0	+11,3B 0,4	-5,3B 0,2	+3,5B 0,5
	BRS Estilo	-25,2A 1,1	-18,7A 0,8	+27,2AB 3,2	+32,7A 1,7	+19,4A 0,6
	Campos Gerais	-32,2A 1,3	-38,6B 5,3	+39,4A 1,3	+5,7B 1,2	+22,1A 2,0
	IPR 139	-31,6A 4,9	-28,9AB 2,9	+28,8A 4,3	-22,4C 3,0	+6,0B 0,6
Al	Tepary bean	-5,6B 1,1	+11,6B 1,0	+29,0BC 1,5	+32,8A 6,8	+29,9B 3,3
	BRS Estilo	+16,1A 1,6	+29,6A 2,7	+44,8B 10,9	+43,5A 7,0	+46,3A 3,4
	Campos Gerais	-17,5C 3,0	-3,8C 0,4	+20,2C 1,0	-17,6C 1,8	-0,6C 0,08
	IPR 139	-16,2C 1,4	+29,9A 2,9	+83,0A 3,6	+18,0B 3,4	+51,6A 0,4
AT+Al	Tepary bean	-39,7C 1,8	-30,1C 1,6	+57,0A 2,4	+25,3A 2,4	+41,0A 0,9
	BRS Estilo	-19,15AB 2,0	-14,9B 1,1	+41,4A 6,4	+28,9A 3,4	+32,0B 4,7
	Campos Gerais	-9,8A 0,3	-32,1C 3,5	-9,1B 0,9	-41,8C 5,0	-24,7D 3,4
	IPR 139	-28,7B 4,6	+6,8A 0,9	+1,2B 0,1	-17,1B 0,7	-1,6C 0,3

**Tabela 3.** Porcentagens de aumento ou redução em relação ao referencial da altura das plantas (AP), número de trifólios (NT), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), comprimento de raiz (CR), volume de raiz (VR) e massa seca da raiz (MSR) da cultivar Tepary (*Phaseolus acutifolius*) e de três cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) BRS Estilo, Campos Gerais e IPR 139, expostas aos tratamentos: referencial (REF, 25°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alta temperatura (AT, 40°C, 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al); alto teor de alumínio (Al, 25°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al) e pelos estresses combinado (AT+Al, 40°C, 1,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> Al). Barras representam médias ± EP (n = 5). Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias, entre as cultivares de feijão (P < 0,05).

TRATAMENTO	CULTIVAR	AP	NT	MSF	MSC	CR	VR	MSR
AT	Tepary bean	+11,4A 2,2	+54,1A 3,5	-10,8B 3,2	-23,5C 4,3	+20,5A 5,9	-47,0A 6,2	+6,8BC 0,4
	BRS Estilo	-27,4C 3	-4,1C 0,7	-27,9C 5,2	-18,6C 4,6	-19D 2,9	-6,13B 0,4	-9,4C 1,8
	Campos Gerais	-5,2B 1,1	+14,1B 4,7	+30,4A 6,4	+53,2A 5,8	-5,9C 1,1	-35,5A 5,5	+44,3A 9,4
	IPR 139	-5,4B 1,25	-5,6C 1,5	-14,19BC 3,9	+15,44B 3,44	+37,17A 4,12	-30,4A 4,8	+19,7B 4,03
Al	Tepary bean	-17,8A 3,7	-51A 2,8	-62,1B 3,5	-66,9A 2,9	+10,5A 1,1	46,6AB 7,9	-62,1B 2,8
	BRS Estilo	-52,6B 4,7	-52,2A 2,4	-61,7B 1,0	-70,6A 1,66	-21,4B 4,8	-29,0A 6,0	-51,5AB 4,3
	Campos Gerais	-16,6A 0,8	-51,0A 2,8	-41,8A 1,0	61,7A 0,6	-20,1B 2,8	-60,1B 1,2	-40,7A 7,8
	IPR 139	-10,7A 3,5	-57,9A 1,9	-61,5B 2,7	-56,3A 3,1	-17,6B 0,9	-49,0B 3,2	-51,3AB 2,9
AT+Al	Tepary bean	-3,4A 0,5	-28,5A 1,9	-50,2A 5,4	-45,3A 7,5	-9,1A 1,9	-43,7A 7,2	-18,9B 2,1
	BRS Estilo	-60,0C 4,4	-52,5C 4,8	-68,3C 1,49	-62,0B 2,4	-38,3C 6,5	-57,3A 4,5	-52,0C 5,2
	Campos Gerais	-17,4B 5,7	-37,7AB 3,05	-50,5B 3,6	-54,4AB 5,6	-23,21B 4,2	-47,8A 3,0	+22,3A 4,5
	IPR 139	-22,8B 4,3	-43,7BC 6,7	-62,5AB 3,1	-53,4AB 4,7	-15,8AB 2,5	-61,0A 5,8	-28,8B 1,6

## CONCLUSÃO GERAL

Os estresses impostos desencadearam alterações nas trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, eficiência fotoquímica, anatomia foliar e conteúdo de nutrientes de todas cultivares. Os efeitos dos estresses por Al e AT+Al foram predominantes em relação ao tratamento térmico isolado. As cultivares de feijão BRS Estilo e IPR 139 foram mais sensíveis ao estresse combinado (AT+Al). Já as cultivares Campos Gerais e Tepary apresentaram como mecanismo protetor o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, a fim de minimizar os danos causados pelos tratamentos impostos.