

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

FRANCISCO WELITON ROCHA SILVA

**RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI A CONDIÇÕES ÁCIDAS: INTERAÇÕES
ALUMÍNIO X HIDROGÊNIO E MANGANÊS X HIDROGÊNIO**

MANAUS

2020

FRANCISCO WELITON ROCHA SILVA

**RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI A CONDIÇÕES ÁCIDAS: INTERAÇÕES
ALUMÍNIO X HIDROGÊNIO E MANGANÊS X HIDROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Faculdade de Ciências Agrárias/ Universidade Federal do Amazonas, para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical; Área de concentração: Produção Vegetal.

ORIENTADOR: PROF. Dr. JOSÉ ZILTON LOPES SANTOS

MANAUS

2020

Ficha Catalográfica

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

S586r Silva, Francisco Weliton Rocha
Resposta do feijão caupi a condições ácidas: interações alumínio x hidrogênio e manganês x hidrogênio / Francisco Weliton Rocha Silva . 2020
83 f.: il.; 31 cm.

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

1. Estresse abiótico. 2. Nutrição Mineral de Plantas. 3. Prolina. 4. Vigna unguiculata. I. Santos, José Zilton Lopes. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

FRANCISCO WELITON ROCHA SILVA

**RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI A CONDIÇÕES ÁCIDAS: INTERAÇÕES
ALUMÍNIO X HIDROGÊNIO E MANGANÊS X HIDROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical; Área de concentração: Produção Vegetal.

Aprovado em 13 de março de 2020

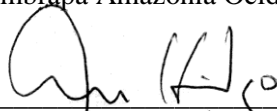
BANCA EXAMINADORA



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



Dr. Francisco Célio Maia Chaves
Embrapa Amazônia Ocidental



Prof. Dr. Ari de Freitas Hidalgo
Universidade Federal do Amazonas



Profª. Dra. Flavia Camila Schimpl
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dr. Adilson dos Santos Hara
Universidade Federal do Amazonas

A Deus, à minha mãe Izolina, ao meu querido filho Felipe Willyam e à minha esposa Suely.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por toda a sua misericórdia e bênçãos, que permitiram a minha caminhada até aqui.

À Universidade Federal do Amazonas – UFAM pela liberação das minhas funções como funcionário desta Instituição de Ensino, tornando-se possível a realização desse curso para qualificação profissional.

Sou imensamente grato ao meu orientador, Prof. Dr. José Zilton Lopes Santos, por toda sua paciência, contribuição e ensinamentos durante todo o processo de desenvolvimento do trabalho de doutorado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical (PGATR) pela oportunidade e o suporte durante a realização do curso.

Sou grato também aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, pelos ensinamentos que contribuíram com o meu desenvolvimento acadêmico.

Aos professores do Departamento de Geografia da UFAM, pela oportunidade e confiança concedida para que eu pudesse me qualificar e ampliar meus conhecimentos.

Aos alunos de Pós-graduação e PIBIC do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, pela contribuição e apoio na condução dos trabalhos.

Aos alunos de doutorado do PGATR da UFAM, Sulianne Idalior e Nonato Junior, pela parceria e apoio na condução dos trabalhos.

Sou muito grato ao Laboratório de Plantas Daninhas da UFAM, especialmente os professores José Ferreira e Flavia Camila Schimpl, e também à Bruna Leite, pelo acesso ao laboratório para realização das análises, e também pela ajuda nas análises em casa de vegetação.

À minha mãe, Izolina Rocha Silva, sou eternamente grato, por me dar uma vida e uma educação necessária para que me tornasse uma pessoa melhor, possibilitando dessa forma a chegada até aqui.

Sou também muito grato à minha esposa, Suely Oliveira Paes, pela compreensão, paciência e apoio nos momentos mais difíceis ao longo dessa jornada.

Ao meu filho, Felipe Willyam, por me inspirar todos os dias dando-me a força necessária pra seguir sempre em frente.

À minha enteada Maria Letícia, pelos momentos de descontração e alegria nas horas certas.

E por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de forma direta e indireta para a realização desse ideal.

A agricultura e as plantas fornecem o alimento e o oxigênio essenciais à vida.

Nenhuma vida humana pode existir sem as plantas e a agricultura.

RESUMO

O feijão caupi é um alimento de grande importância nutricional e também tem relevância socioeconômica como fonte de renda para pequenos agricultores nas regiões norte e nordeste do Brasil. Os objetivos deste trabalho foram investigar os efeitos da interação de Al x H e Mn x H no crescimento, fotossíntese, estado nutricional e acúmulo de prolina em duas cultivares de feijão-caupi (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua). Utilizou-se areia lavada como substrato e solução nutritiva como fonte de nutrientes. Estudo 1: plantas jovens de BRS Caldeirão e BRS Tracuateua foram expostas a uma combinação fatorial de duas doses de Al (0,0 e 1,0 mM) e três níveis de pH (3,3, 4,0 e 4,7), mais um tratamento controle. Estudo 2: plantas jovens de BRS Caldeirão e BRS Tracuateua foram expostas a uma combinação fatorial de duas doses de Mn (0,0 e 72 μ M) e três níveis de pH (3,7, 5,0 e 6,3), mais um tratamento controle. Em ambos os estudos, o tratamento controle foi composto de uma solução nutritiva com 1/4 da força iônica da solução padrão de Hoagland e Arnon, com pH 5,8 e sem Al no estudo 1 e sem Mn no estudo 2. Não houve efeito da interação entre Al e pH sobre variáveis de crescimento das plantas. No entanto, os parâmetros fisiológicos como taxa de fotossíntese (A), conteúdo de carbono interno (C_i) e índice de desempenho (PI_{total}) foram significativamente reduzidos na BRS Caldeirão pelos danos fotoinibitórios aos componentes do aparato fotossintético, notadamente sob condições de pH 4,7. O acúmulo de prolina foi menor na parte aérea de BRS Caldeirão cultivadas com Al, enquanto na BRS Tracuateua o menor acúmulo desse aminoácido promoveu estresse hídrico nos tecidos de raiz. A presença de Al reduziu os teores de Ca, Mg e na parte aérea de BRS Caldeirão, e o efeito da interação com H, reduziu os teores de P e S na solução a pH 4,7, enquanto na BRS Tracuateua, houve redução dos teores de P, Ca e Fe nos tecidos da parte aérea. No estudo 2, a BRS Caldeirão indicou que os parâmetros de crescimento como massa seca da parte aérea e matéria seca total foram maiores nas plantas tratadas com excesso de Mn (72 μ M) em comparação ao cultivo sem Mn em solução, enquanto na BRS Tracuateua, o estresse por excesso de Mn reduziu a produção de biomassa seca da folha. A BRS Caldeirão apresentou tolerância às concentrações tóxicas de Al, Mn e H na solução de cultivo, enquanto a BRS Tracuateua foi mais sensível ao estresse por esses elementos.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Nutrição mineral de plantas. Prolina. *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

Cowpea is a food of great nutritional importance, and has socioeconomic relevance as a source of income for small farmers in the north and northeast regions of Brazil. The goals of this work were to investigate the effect of the interaction of Al x H and Mn x H on growth, photosynthesis, nutritional status and proline accumulation in two cowpea cultivars (BRS Caldeirão and BRS Tracuateua). It was used washed sand as substrate, and nutrient solution as a source of nutrients for plant growth. In the study 1, young plants of cowpea cv. BRS Caldeirão and BRS Tracuateua were exposed to a factorial combination of two levels of Al (0.0 and 1.0 mM) and three levels of pH (3.3, 4.0 and 4.7), plus a control treatment. In the study 2: young plants of cowpea (BRS Caldeirão and BRS Tracuateua) were exposed to a factorial combination of two levels of Mn (0.0 and 72 μ M) and three levels of pH (3.7, 5.0 and 6.3), plus a control treatment. In both studies, control treatment was composed of $\frac{1}{4}$ Hogland's solution, without Al in the study 1 and without Mn in the study 2. For BRS Caldeirão and BRS Tracuateua, the results showed that growth parameters were not affected by the Al and pH interaction. However, physiologic parameters like rate of photosynthesis (A), internal carbon content (Ci) and index of total performance (PI_{total}) were significantly reduced for BRS Caldeirão, caused inhibitory injuries to the photosynthetic apparatus, specially under pH conditions of 4.7. Proline accumulation was lower in shoot with nutrient solution containing Al 1 mM for BRS Caldeirão, while for BRS Tracuateua the lower proline accumulation in root lead to water stress. The nutrient composition in shoots showed that Al reduced the content of Ca and Mg for BRS Caldeirão, reducing also the contents of P and S by the interaction effect with pH 4.7, while for BRS Tracuateua the contents of P, Ca and Fe were significantly reduced in shoot. In the study 2, for BRS Caldeirão the growth parameters like shoot and total dry matter were higher in plants treated with excess of Mn (72 μ M), while for BRS Tracuateua, Mn stress reduced the leaf biomass production. The BRS Caldeirão presented tolerance to toxic levels of Al, Mn e H in nutrient solution, while the BRS Tracuateua was less tolerant.

Keywords: Biotic stress. Plant mineral nutrition. Proline. *Vigna unguiculata*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	1
	REFERÊNCIAS	5
2	CAPÍTULO I: RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI À INTERAÇÃO ALUMÍNIO E HIDROGÊNIO	5
2.1	INTRODUÇÃO	12
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	14
2.2.1	Espécie e condições de crescimento	14
2.2.2	Delineamento experimental e tratamentos	15
2.2.3	Procedimentos específicos	15
	2.2.3.1 <i>Preparo do substrato e dos recipientes de cultivo</i>	15
	2.2.3.2 <i>Obtenção de plantas</i>	15
	2.2.3.3 <i>Pré-cultivo</i>	16
	2.2.3.4 <i>Cultivo - aplicação dos tratamentos e adubação básica de cultivo</i>	16
	2.2.3.5 <i>Preparo das soluções</i>	16
	2.2.3.6 <i>Fornecimento e troca de soluções de nutrientes</i>	17
2.2.4	Avaliação do experimento	17
	2.2.4.1 <i>Avaliação das trocas gasosas</i>	17
	2.2.4.2 <i>Fluorescência da clorofila a</i>	17
	2.2.4.3 <i>Parâmetros de crescimento</i>	18
	2.2.4.4 <i>Teor de prolina</i>	18
	2.2.4.5 <i>Avaliação do estado nutricional</i>	19
2.2.5	Análise dos dados	19
2.3	RESULTADOS	20
2.3.1	Interação Al x pH	20
	2.3.1.1 <i>Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Caldeirão)</i>	20
	2.3.1.2 <i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	23
	2.3.1.3 <i>Teor de nutrientes na parte aérea das raízes (Cultivar BRS Tracuateua)</i>	25
	2.3.1.4 <i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	29
	2.3.1.5 <i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)</i>	30
	2.3.1.6 <i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	32
	2.3.1.7 <i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)</i>	33
	2.3.1.8 <i>Teor de prolina (BRS Caldeirão)</i>	34
	2.3.1.9 <i>Teor de prolina (BRS Tracuateua)</i>	34
	2.3.1.10 <i>Crescimento e produção de biomassa (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua)</i> ..	35
2.4	DISCUSSÃO	35
2.4.1	Interação Al x pH	35
	2.4.1.1 <i>Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Caldeirão)</i>	35
	2.4.1.2 <i>Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Tracuateua)</i>	37
	2.4.1.3 <i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	39
	2.4.1.4 <i>Parâmetros de crescimento e produção de biomassa</i>	39
	2.4.1.5 <i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)</i>	39

2.4.1.6	<i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)</i>	42
2.4.1.7	<i>Teor de prolina (BRS Caldeirão)</i>	42
2.4.1.8	<i>Teor de prolina (BRS Tracuateua)</i>	44
2.5	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS	46
3	CAPÍTULO II: RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI À INTERAÇÃO MANGANÊS E HIDROGÊNIO	53
3.1	INTRODUÇÃO	55
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	57
3.2.1	Espécie e condições de crescimento	57
3.2.2	Delineamento experimental e tratamentos	57
3.2.3	Procedimentos específicos	57
3.2.3.1	<i>Preparo do substrato e dos recipientes de cultivo</i>	57
3.2.3.2	<i>Obtenção das plantas</i>	57
3.2.3.3	<i>Pré-cultivo</i>	58
3.2.3.4	<i>Cultivo - aplicação dos tratamentos e adubação básica de cultivo</i>	58
3.2.3.5	<i>Preparo das soluções</i>	58
3.2.3.6	<i>Fornecimento e troca de soluções de nutrientes</i>	58
3.2.4	Avaliação do experimento	59
3.2.4.1	<i>Avaliação dos parâmetros fotossintéticos</i>	59
3.2.4.2	<i>Fluorescência da clorofila a</i>	59
3.2.4.3	<i>Parâmetros de crescimento</i>	59
3.2.4.4	<i>Teor de prolina</i>	60
3.2.4.5	<i>Avaliação do estado nutricional</i>	60
3.2.5	Análise dos dados	60
3.3	RESULTADOS	60
3.3.1	Interação Mn x pH	60
3.3.1.1	<i>Teor de nutrientes na folha (BRS Caldeirão)</i>	60
3.3.1.2	<i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	62
3.3.1.3	<i>Teor de nutrientes na folha (BRS Tracuateua)</i>	63
3.3.1.4	<i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	64
3.3.1.5	<i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)</i>	65
3.3.1.6	<i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)</i>	67
3.3.1.7	<i>Teor de prolina (BRS Caldeirão)</i>	68
3.3.1.8	<i>Teor de prolina (BRS Tracuateua)</i>	69
3.3.1.9	<i>Parâmetros de crescimento (BRS Caldeirão)</i>	69
3.3.1.10	<i>Parâmetros de crescimento (BRS Tracuateua)</i>	69
3.4	DISCUSSÃO	71
3.4.1	Interação Mn x pH	71
3.4.1.1	<i>Teor de nutrientes na folha (Cultivar BRS Caldeirão)</i>	71
3.4.1.2	<i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	72
3.4.1.3	<i>Estado nutricional (BRS Tracuateua)</i>	73
3.4.1.4	<i>Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos</i>	73
3.4.1.5	<i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)</i>	74
3.4.1.6	<i>Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)</i>	75
3.4.1.7	<i>Teor de prolina na folha (BRS Caldeirão)</i>	75

3.4.1.8	<i>Teor de prolina na folha (BRS Tracuateua)</i>	76
3.4.1.9	<i>Parâmetros de crescimento e produção de biomassa (BRS Caldeirão)</i>	76
3.4.1.10	<i>Parâmetros de crescimento e produção de biomassa (BRS Tracuateua)</i>	77
3.5	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	79
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Teor de fósforo (P) (A e B), enxofre (S) (C e D) e ferro (Fe) (E e F) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH e efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al, respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. 21
- Figura 2.** Teores de cálcio (Ca) (A), magnésio (Mg) (B) e Manganês (Mn) (C) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função das concentrações de alumínio e teores de Mn (D) em função dos níveis de pH, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 22
- Figura 3.** Teor de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) nas raízes do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função do efeito das concentrações de Al, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade..... 23
- Figura 4.** Contrastes médios dos teores de fosforo (P) (A), cálcio (Ca) (B), magnésio (Mg) (Mg), enxofre (S) (D) e manganês (Mn) (E) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade..... 24
- Figura 5.** Contrastes médios dos teores de nitrogênio (N) (A), cálcio (Ca) (B) e boro (B) (C) nas raízes do feijão caupi cv. Caldeirão, em função do efeito das tratamentos T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. 25
- Figura 6.** Teor de potássio (K) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B), respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade..... 26
- Figura 7.** Teor de fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito da concentração de Al (A, B, C, D e E) e níveis de pH (F e G), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. 28
- Figura 8.** Teor de fósforo (P), cálcio (Ca) e ferro (Fe) nas raízes do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito da concentração de Al (A, B, C) e níveis de

pH (D), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.....29

- Figura 9.** Contrastes médios dos teores de nitrogênio (N), cálcio (Ca) e boro (B) na raiz do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito das tratamentos [T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. 30
- Figura 10.** Concentração de carbono interno (Ci) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B), respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.....31
- Figura 11.** Fotossíntese líquida (A) e eficiência interna de carboxilação (EIC) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função de níveis de pH da solução nutritiva, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 31
- Figura 12.** Contrastes médios do índice de desempenho (PI_{total}) (A), eficiência interna de carboxilação (EIC) (B) e a fotossíntese líquida (A) (C) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos [T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade..... 32
- Figura 13.** Transpiração (E) e condutância estomática (gs) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A e C) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B e D), respectivamente, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.33
- Figura 14.** Teor de prolina na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito dos níveis de pH (A) e concentração de Al (B), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 34
- Figura 15.** Contrastes médios do teor de prolina na raiz do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito dos tratamentos: T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.....35
- Figura 16.** Teor de manganês (Mn) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas

- com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 61
- Figura 17.** Teor de nitrogênio (N), fósforo (P) e ferro (Fe) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de Mn, após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 62
- Figura 18.** Contrastes médios dos teores de manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos: T1-(0:3,7); T2-(0: 5,0); T3-(0:6,3); T4-(72:3,7); T5-(72:5,0); T6-(72:6,3) - níveis de Mn e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. 63
- Figura 19.** Teores de potássio (K), magnésio (Mg), manganês (Mn) e Zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função da concentração de manganês (Mn) (A, B e C), e de níveis de pH (D e E), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 64
- Figura 20.** Contrastes médios dos teores de manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito das tratamentos: T1-(0:3,7); T2-(0: 5,0); T3-(0:6,3); T4-(72:3,7); T5-(72:5,0); T6-(72:6,3) - níveis de Mn e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade..... 65
- Figura 21.** Eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 66
- Figura 22.** Índice de desempenho fotossintético (PI_{total} e PI_{abs}) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de Mn (A e C) e níveis de pH (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 67
- Figura 23.** Fotossíntese líquida (A) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito de níveis de pH, após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 68
- Figura 24.** Teor de prolina na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 68
- Figura 25.** Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 69

- Figura 26.** Relação massa seca de raiz / massa seca da parte aérea (MSR/MSPA) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 70
- Figura 27.** Massa seca da folha (MSF) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 71

1 INTRODUÇÃO GERAL

Na agricultura mundial a diminuição da produtividade vegetal devido ao efeito dos fatores de estresse tem sido motivo de grande preocupação, especialmente diante do crescente aumento da população mundial e da demanda por alimentos. Os efeitos negativos desses fatores podem causar redução de até 70% na produção (BOYER, 1982; VORASOOT et al., 2003; THAKUR et al., 2010). Em função disso, atualmente tem aumentado significativamente o número de pesquisas científicas com o intuito compreender tais efeitos e reduzir os impactos sobre a produção (CRAMER et al., 2011; ROSENZWEIG et al., 2014; RAZA et al., 2019). As pesquisas na área de nutrição mineral de plantas têm um papel importante e estratégico visando compreender esses efeitos, além de contribuir com a melhoria da tolerância ao estresse e o aumento da produção agrícola.

Entre as plantas de importância agrícola, o feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma espécie leguminosa que se destaca na culinária brasileira por ser um alimento com alto valor nutritivo (FILGUEIRAS et al., 2009; SOUSA et al., 2016), e ainda, possui grande relevância socioeconômica, pois gera emprego e renda aos produtores, especialmente nas regiões norte e nordeste do Brasil (FROTA et al., 2008; FROTA et al., 2009; CARVALHO et al., 2011; SANTOS et al., 2014), onde o feijão caupi tem sido mais cultivado (FREIRE FILHO, 2011; CONAB, 2018). Apesar da importância agrônômica, essa espécie ainda é cultivada principalmente com o uso de baixa tecnologia, o que tem limitado o aumento da produtividade nessas regiões. Conforme vários autores (MELO et al., 1996; FREIRE FILHO, 2011; CORREA et al., 2012), o feijão caupi é uma cultura considerada rústica e tolerante por se desenvolver razoavelmente bem em solos de baixa fertilidade e em regiões mais quentes e secas.

Fatores de estresse abiótico associados a acidez dos solos são considerados limitantes para as plantas em várias partes do mundo (FOY, 1984; KIDD e PROCTOR, 2001; SAMAC e TESFAYE, 2003; BIAN et al., 2013). Sob tais condições de crescimento, uma série de fatores tende a causar toxidez as plantas, dependendo das características de composição do solo (SAMAC e TESFAYE, 2003). A condição de acidez é atribuída principalmente as características do material de origem, que geralmente são ácidos e contém baixos teores de cátions básicos como cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e sódio (Na) ou ainda, devido as características climáticas da região que contribuem para lixiviação desses cátions no perfil

do solo, baixando o pH e aumentando os níveis de alumínio (Al) na solução (SAMAC e TESFAYE, 2003). Em muitas dessas áreas, existem populações humanas que dependem desses solos para produzir seus alimentos, o que demonstra a necessidade de selecionar cultivares vegetais com tolerância a acidez (SAMAC e TESFAYE, 2003).

Nos ambientes de terra firme da Amazônia, aproximadamente 70% dos solos são ácidos (SANCHEZ, 1981), com baixa capacidade de troca de cátions (CTC) e pH variando entre 3,9 e 4,4 (MOREIRA e FAGERIA, 2009). Conforme a literatura (CARNEIRO et al., 2001), alumínio (Al) e manganês (Mn) se destacam como os fatores que mais limitam a produção agrícola nos solos ácidos. A literatura também destaca que o hidrogênio (H^+) pode desempenhar papel importante no cultivo sob condições ácidas (KINRAIDE et al., 1992). Alguns trabalhos (KINRAIDE, 1991; KINRAIDE et al., 1992) relatam que o H em solução pode ter efeitos negativos e também ser bastante efetivo em atenuar alguns efeitos tóxicos de outros cátions, como por exemplo, a toxicidade de íons de Al^{+3} sobre as raízes das plantas.

Em solos com pH ácido, os níveis tóxicos de Al na solução constituem o fator abiótico de estresse que mais limita a produtividade das plantas agrícolas (DELHAIZE e RYAN, 1995). Sob as condições de pH da maioria dos solos tropicais o Al tende a predominar na forma iônica trivalente (Al^{+3}), que é considerada a responsável por causar o maior impacto negativo sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas (HARIDASAN, 2008). Esse elemento não é considerado importante do ponto de vista da nutrição mineral de plantas por não atender a nenhum dos critérios de essencialidade. Mas, baixas concentrações na solução pode também apresentar resultados positivos para algumas espécies, como tem sido reportado para a cultura do arroz (FAGERIA e ZIMMERMANN, 1979; FAGERIA, 1982). Apesar disso, de modo geral, a maioria dos estudos tem mostrado que a presença de Al afeta negativamente o crescimento e o desenvolvimento das raízes, mesmo em concentrações micromolares (DELHAIZE e RYAN, 1995; HARIDASAN, 2008), o que pode levar ao estresse hídrico e a deficiência nutricional das plantas (FOY et al., 1978; KOCHIAN, 1995; MA, 2005; SADE et al., 2016).

O efeito negativo do Al sobre o crescimento das plantas se dá após danos causados inicialmente ao sistema radicular (KOCHIAN, 1995), devido à alta sensibilidade desse tecido vegetal a sua presença. O alumínio tem alta afinidade pelas cargas dos sítios de ligação da parede celular, e quando em contato com as raízes, desloca o Ca contido nos pectatos de cálcio, que desestabiliza a estrutura e aumenta a permeabilidade das membranas celulares

(DELHAIZE e RYAN, 1995). Dentro da célula, a interação do Al^{+3} com outros componentes afeta vários processos metabólicos importantes, tais como atividade de enzimas, especialmente a redutase do nitrato, bem como a síntese de moléculas de ATP e DNA (DELHAIZE e RYAN, 1995; CRUZ et al., 2011), podendo portanto causar a inibição da divisão celular e a extensão da célula (FOY et al., 1978; NAVASCUÉS et al., 2012), tornando-as atrofiadas e frágeis, havendo baixa formação de pelos radiculares e o ápice das raízes apresenta-se grosso e danificado (HORST et al., 2010).

A literatura também destaca que o Al pode induzir o aumento nos níveis de prolina no tecido vegetal (CRUZ et al., 2014), constituindo-se num bom indicador de estresse. A biossíntese desse aminoácido pode ocorrer em resposta a vários tipos de estresse, incluindo exposição a metais tóxicos e as condições de alta acidez do solo (DELAUNEY e VERMA, 1993). O acúmulo de prolina desempenha importante função no metabolismo das plantas, agindo como osmorregular dentro da célula e também como uma forma de proteção antioxidante (CHEN e DICKMAN, 2005; DAVAR et al., 2013; REJEB et al., 2014).

Após o Al, o Mn em concentrações tóxicas é o metal que mais afeta negativamente as propriedades fisiológicas e bioquímicas das plantas (RAYEN et al., 2010). Em condições de solos ácidos, o estresse associado ao excesso de Mn é um fator limitante (FOY, 1984; MARSCHNER, 1995), especialmente para o cultivo de espécies leguminosas (HORST e MARSCHNER, 1978). Para a cultura do feijão caupi, o Mn constitui o terceiro micronutriente mais extraído (FONSECA et al., 2010). A tolerância e os sintomas de toxidez podem variar consideravelmente (SORATTO et al., 2005), o que está relacionado com a grande variedade genética que existe entre as cultivares desta espécie (HORST et al., 1999). A tolerância ao excesso de Mn é controlada principalmente por fatores genéticos (FOY et al., 1978). Acredita-se que o principal mecanismo de tolerância seja a capacidade de acumular e suportar grandes quantidades de Mn no tecido foliar (KOHNO e FOY, 1983).

Ao contrário do Al, o Mn é considerado um elemento essencial por desempenhar função importante no metabolismo e crescimento das plantas, especialmente em processos de oxirredução, ativação enzimática e na transferência de elétrons para o fotossistema II (FSII) (FAGERIA, 2001). Nas condições normais de boa aeração do solo, o Mn é absorvido principalmente na forma iônica divalente (Mn^{2+}). Esse micronutriente faz parte da proteína D1 envolvida na fotólise da água que ocorre nos cloroplastos, sendo, portanto, essencial no processo de fotossíntese e na síntese de clorofila (MARSCHNER, 1995; FAGERIA, 2001).

Desse modo, o estresse por excesso de Mn afeta principalmente os cloroplastos e o processo fotossintético, inibindo a eficiência de carboxilação em várias espécies de plantas (RAYEN et al., 2010). Os autores têm sugerido que a redução da fotossíntese pode ser o primeiro indicador de estresse por excesso de Mn em algumas espécies.

Atualmente existem várias ferramentas disponíveis para investigar os efeitos do estresse abiótico sobre as plantas. Entre as técnicas experimentais disponíveis, destacam-se a análise química do estado nutricional de plantas, parâmetros de crescimento e das trocas gasosas. Os efeitos mais comumente observados sobre as variáveis fisiológicas, dependendo do grau de tolerância da espécie vegetal, são as alterações na taxa fotossintética líquida (A), transpiração (E), condutância estomática (g_s) e a concentração de carbono interno (C_i). Outra ferramenta muito utilizada atualmente nos estudos de estresse, é a análise da fluorescência da clorofila a (STRASSER et al., 1995; MAXWELL e JOHNSON, 2000). Tais ferramentas são consideradas não destrutivas, rápidas e com boa precisão (TORRES NETTO et al., 2005).

Os níveis de tolerância entre genótipos de feijão caupi são considerados importantes para acessar informações sobre os mecanismos de tolerância e a capacidade dessa espécie de suportar diferentes tipos de estresse (AKINRINDE et al., 2006; SOARES et al., 2014). Nesse sentido, vários trabalhos sobre a cultura foram desenvolvidos, principalmente sobre o estresse hídrico decorrente do efeito da salinidade, que é um problema muito frequente no Nordeste brasileiro (TURK e HALL, 1990; MENDES et al., 2007), bem como sobre o efeito do estresse por metais, como o estresse por alumínio (MANZI e CARTWRIGHT, 1984), e por excesso de manganês (HORST, 1983; SORATTO et al., 2005; FÜHRS et al., 2009). No entanto, a resposta das plantas de feijão caupi as interações dos fatores (Al e Mn) com diferentes níveis de H (acidez) na solução ainda são pouco conhecidos. Tais informações podem contribuir para seleção de genótipos tolerantes, indicando características de tolerância e de adaptação ao cultivo sob condições ácidas. Os efeitos do estresse podem ser melhor estudados utilizando condições controladas (cultivo hidropônico), onde os elementos minerais são fornecidos via solução de cultivo. Nessa técnica existe um maior controle da composição de minerais que são fornecidas as plantas estudadas (BEZERRA NETO e BARRETO, 2012). Diante do exposto, o objetivo geral do presente trabalho foi investigar o efeito das interações de alumínio (Al) e manganês (Mn) com diferentes níveis de acidez (pH) sobre o crescimento, estado nutricional, características fisiológicas e bioquímica de dois genótipos de feijão caupi em solução nutritiva de cultivo em areia.

REFERÊNCIAS

- AKINRINDE, E. A.; IROH, L.; OBIGBESAN, G. O.; HILGER, T.; NEUMANN, G.; ROMHELD, V. Differential expression of aluminium tolerance mechanisms in cowpea genotypes under phosphorus limitation. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 854-859, Apr. 2006.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. As técnicas de hidroponia. *In: Anais da Academia Pernambucana da Ciência Agrônômica*, Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, v. 8 e 9, 2012, p. 107-137.
- BIAN, M.; ZHOU, M.; SUN, D.; LI, C. Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal**, v. 1, n. 2, p. 91-104, Dec. 2013.
- BOYER, J. S. Plant productivity and environment. **Science**, v. 218, n. 4571, p. 443-448, Oct. 1982.
- CARNEIRO, J.P.; VARENNE, A.; AMANTE, H. Manganese toxicity in three species of annual medicis. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 12, p. 1957-1964, May 2001.
- CARVALHO, H. W. L.; BRITO NETO, J.; FREIRE FILHO, F. J. Desempenho de linhagens avançadas de feijão-caupi no nordeste brasileiro. **Revista Científica Rural**, v. 13, n. 1, p. 126-138, nov. 2011.
- CHEN, C.; DICKMAN, M. B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 9, p. 3459-3464, Mar. 2005.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília: Observatório de Grãos, v. 1, n. 1, 178 p., jun. 2018. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em 16/10/2019.
- CORREA, A. M.; CECCON, G.; CORREA, C. M. A.; DELBEN, D. S. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres**, v. 59, p. 88-94, jan./fev. 2012.
- CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 163, p. 1-14, Nov. 2011.
- CRUZ, F. J. R.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L.; LOPES, M. J. S.; NEVES, H. K. B.; NETO, C. F. O.; SILVA, M. H. L.; SANTOS FILHO, B. G.; LIMA JUNIOR, J. A. Aluminum negative impact on nitrate reductase activity, nitrogen compounds and morphological parameters in sorghum plants. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 641-645, Jun. 2011.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v. 68, p. 821-829, Aug. 2013.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v. 4, n. 2, p. 215-223, Aug. 1993.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, v. 107, n. 12, p. 315-321, Feb. 1995.

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

FAGERIA, N. K. Tolerância diferencial de cultivares de arroz ao alumínio em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 1-9, jan. 1982.

FAGERIA, N. K.; ZIMMERMANN, F. J. P. Interação entre fósforo, zinco e cálcio em arroz-de-sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 3, n. 2, p. 88-92, jan./dez. 1979.

FILGUEIRAS, G. C.; SANTOS, M. A. S.; HOMMA, A. K. O; REBELLO, F. K.; CRAVO, M. S. Aspectos socioeconômicos. In: ZILLI, J. E.; VILARINHO, A. A.; ALVES, J. M. A. (eds.). **A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009, p. 23-58.

FONSECA, M. R.; FERNANDES, A. R.; SILVA, G. R.; BRASIL, E. C. Teor e acúmulo de nutrientes por plantas de feijão-caupi em função do fósforo e da saturação por bases. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 53, n. 2, p. 195-205, jul./dez. 2010

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

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, Jun. 1978.

FREIRE FILHO, F. R. (Ed.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011, 84 p.

FROTA, K. M. G.; MORGADO, M. A.; SILVA, M. G.; ARAUJO, M. A. M.; MOREIRA, R. S. R. Utilização da farinha de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na elaboração de produtos de panificação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p 44-50, Supl. 1, mai. 2009.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 470-476, abr./jun. 2008.

FÜHRS, H.; GÖTZE, S.; SPECHT, A.; ERBAN, A.; GALLIEN, S.; HEINTZ, D.; VAN DORSSELAER, A.; KOPKA, J.; BRAUN, H. P.; HORST, W. J. Characterization of leaf

apoplastic peroxidases and metabolites in *Vigna unguiculata* in response to toxic manganese supply and silicon. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 6, p. 1663-1678, Mar. 2009

HARIDASAN, M. Alumínio é um elemento tóxico para as plantas nativas do Cerrado? *In*: PRADO, C. H. B. A; CASALI, C. A. (Orgs.). **Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral**. Barueri: Manole, 2008, p. 1-10.

HORST, G. V. D.; MUIJTJENS, M.; KOBAYASHI, K.; TAKANO, R. KANNO, S. TAKAO, M.; WIT, J.; VERKERK, A.; EKER, A.; LEENEN, D.; BUIJS, R.; BOOTSMA, D.; HOEIJMAKERS, J.; YASUI, A. Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. **Nature**, v. 398, n. 6728, p. 627-630, Apr. 1999.

HORST, W. J.; MARSCHNER, H. Effect of excessive manganese supply on uptake and translocation of calcium in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 87, n. 2, p. 137-148, Apr. 1978.

HORST, W. J. Factors responsible for genotypic manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant and Soil**, v. 72, n. 2, p. 213-218, Feb. 1983.

HORST, W. J.; WANG, Y.; ETICHA, D. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of Botany**, v. 106, n. 1, p. 185-197, Jul. 2010.

KIDD, P. S.; PROCTOR, J. Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 357, p. 791-799, Apr. 2001.

KINRAIDE, T. B. Identity of the rhizotoxic aluminum species. **Plant Soil**, v. 134, p. 167-178, Jul. 1991.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interactive effects of Al³⁺, H⁺ and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. **Plant Physiology**, v. 99, p. 1461-1468, Aug. 1992.

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

KOHNO, Y.; FOY, C. D. Manganese toxicity in bush bean as affected by concentration of manganese and iron in the nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 363-386, Nov. 1983.

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

MANZI, J. M.; CARTWRIGHT, P. M. The effects of pH and aluminium toxicity on the growth and symbiotic development of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and Soil**, v. 80, p. 423-430, Oct. 1984.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1995, 889 p.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, Apr. 2000.

MELO, F. B.; CARDOSO, M. J.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; ATHAYDE SOBRINHO, C. Efeitos de níveis de potássio na produção de matéria seca de feijão-caupi. In: **Anais da 22ª Reunião Brasileira de Fertilidade Do Solo**, Manaus: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, n. 1, 1996, p. 312-313.

MENDES, R. M. S.; TÁVORA, F. J. A. F.; PINHO, J. L. N.; PITOMBEIRA, J. B. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. **Ciência Agrônômica**, v. 38, p. 95-103, jan./dez. 2007.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K. Soil chemical attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 40, n. 17-18, p. 2912-2925, Sep. 2009.

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

RAYEN, M.; REYES-DÍAZ, M.; IVANOV, A.; MORA, M. L.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: Transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, p. 476 - 494, Dec. 2010.

RAZA, A.; RAZZAQ, A.; MEHMOOD, S. S.; ZOU, X.; ZHANG, X.; LV, Y.; XU, J. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants (Basel)**, v. 8, n. 2, p. 34, Jan. 2019.

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

ROSENZWEIG, C.; ELLIOTT, J.; DERYNG, D.; RUANE, A. C.; MÜLLER, C.; ARNETH, A.; BOOTE, K. J.; FOLBERTH, C.; GLOTTER, M.; KHABAROV, N.; NEUMANN, K.; PIONTEK, F.; PUGH, T. A. M. SCHMID, E.; STEHFEST, E.; YANG, H.; JONES, J. W. Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 9, p. 3268-3273, Mar. 2014.

SADE, H.; MERIGA, B.; SURAPU, V.; GADI, J.; SUNITA, M. S. L.; SURAVAJHALA, P.; KAVI KISHOR, P. B. Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. **Biometals**, v. 29, n. 2, p. 187-210, Apr. 2016.

SAMAC, D. A.; TESFAYE, M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils—A review. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 75, p. 189-207, Dec. 2003

SANCHEZ, P. A.; SALIÑAS, J. G. Low input technology for managing oxisol and ultisols in tropical America. **Advances in Agronomy**, v. 34, p. 229-406, Jan./Dec. 1981.

SANTOS, J. A. S.; SOARES, C. M. G.; CORRÊA, A. M.; TEODORO, P. E.; RIBEIRO, L. P.; ABREU, H. K. A. Agronomic performance and genetic dissimilarity among cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) genotypes. **Global Advanced Research Journal of Agricultural Science**, v. 3, n. 8, p. 205-211, Aug. 2014.

SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; RUFINI, M.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Cowpea symbiotic efficiency, pH and aluminum tolerance in nitrogen-fixing bacteria. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 3, p. 171-180, May./Jun. 2014.

SORATTO, R. P.; SILVA, T. R. B.; BORGHI, E.; SILVA, L. M.; ROSOLEM, C. A. Resposta de quatro cultivares de feijão ao manganês em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 11, n. 2, p. 235-240, abr./jun. 2005.

SOUSA, M.; SILVA, P. R. M.; FRANÇA, S. M.; SILVA, J. D. C.; SOUSA, F. M. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) para resistência a *Callosobruchus maculatus*. **Revista Ciências Agrárias**, v. 59, n. 2, p. 190-195, nov. 2016.

STRASSER, R. J., SRIVASTAVA, A.; GOVINDJEE, C. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v. 61, n. 1, p. 32-42, Jan. 1995.

THAKUR, P.; KUMAR, S.; MALIK, J.; BERGER, J.; NAYYAR, H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 429-443, Jan. 2010.

TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; BRESSAN SMITH, R. E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Science Horticulture**, v. 104, p. 199-209, Aug. 2005.

TURK, K. J.; HALL, A. E. Drought adaptation of cowpea. II Influence of drought on plant water and relations with seed yield. **Agronomy Journal**, v. 72, n. 3, p. 421-27, Mar. 1990.

VORASOOT, N.; SONGSRI, P.; AKKASAENG, C.; JOGLOY, S.; PATANOTHAIS, A. Effect of water stress on yield and agronomic characters of peanut. **Journal of Science Technology**, v. 25, n. 3, p. 283-288, Apr. 2003.

2 CAPÍTULO I: RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI À INTERAÇÃO ALUMÍNIO E HIDROGÊNIO

RESUMO

O alumínio (Al) é o fator de estresse abiótico que mais afeta o cultivo de plantas agrícolas, limitando o crescimento e o desenvolvimento adequado em solos ácidos. O objetivo deste trabalho foi para investigar o efeito da interação entre Al e H sobre a fotossíntese, crescimento, estado nutricional e o acúmulo de prolina nas cultivares BRS Caldeirão e BRS Tracuateua de feijão caupi. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e uma planta por unidade experimental, totalizando 21 plantas por estudo. Plantas jovens de BRS Caldeirão e BRS Tracuateua foram expostas concomitantemente a uma combinação fatorial de duas doses de Al (0,0 e 1,0 mM) e três níveis de pH (3,3; 4,0 e 4,7), mais um tratamento de controle. O tratamento controle foi composto de uma solução nutritiva com 1/4 da força iônica da solução padrão de Hoagland e Arnon, com pH 5,8 e sem a presença de Al. Os resultados mostraram que a exposição aos tratamentos promoveram alterações no comportamento fisiológico da BRS Caldeirão, reduzindo a fotossíntese líquida e a concentração de carbono interno quando cultivada com solução nutritiva contendo 1 mM de Al e pH 4,7, em comparação ao cultivo sem Al e pH 3,3. Na BRS Tracuateua, os parâmetros fisiológicos (E e gs) indicaram que a exposição aos tratamentos levou as plantas ao estresse hídrico, notadamente sob condições de cultivo com Al 1 mM e pH 4,7. A composição química de ambos genótipos indicou que o cultivo em pH mais ácido (3,3) atenuou o efeito de estresse por Al e H, melhorando o estado nutricional das plantas. Para BRS Caldeirão, o cultivo com Al reduziu a absorção e o transporte de nutrientes para parte aérea, especialmente P, S, K, Ca e Mg. Na BRS Tracuateua, o teor de K foi melhor absorvido sob condições de pH mais ácido e sem Al, enquanto que a presença de Al reduziu os teores de P, Ca, Mg, Fe e Zn na parte aérea. O estresse por Al e H afetou a biossíntese e o acúmulo de prolina nas duas cultivares. A BRS Caldeirão apresentou tolerância aos níveis de Al e H na solução, enquanto a BRS Tracuateua foi mais sensível.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Nutrição mineral de plantas. Prolina. *Vigna unguiculata*.

CHAPTER I: RESPONSE OF COWPEA PLANTS TO ALUMINIUM AND HYDROGEN INTERACTION

ABSTRACT

Aluminum (Al) is the most important stress factor affecting metabolism and growth plant in acid soils. The aim of this work was to investigate the effect of aluminum and hydrogen interaction upon the growth, photosynthesis, nutritional status and proline accumulation in cowpea cultivars (BRS Caldeirão and BRS Tracuateua). Two greenhouse studies were carried out using a completely randomized design, with three replications and one plant per experimental unit, totaling 21 plants per study. In both studies, young plants (BRS Caldeirão and BRS Tracuateua) were exposed to a factorial combination of two levels of Al (0.0 and 1.0 mM) and three levels of pH (3.3; 4.0 and 4.7), plus a control treatment. This additional treatment was composed of $\frac{1}{4}$ Hogland's solution without Al and pH 5.8. The results showed that the exposition to the treatments promoted alterations in physiologic parameters for BRS Caldeirão, reducing rate of photosynthesis and internal carbon content when it was cultivated with nutrient solution containing Al 1 mM and pH 4.7, in comparison to cultivation without Al and pH 3.3. For BRS Tracuateua, physiological parameters like rate of transpiration and stomatal conductance indicated that the exposition to Al and H interaction resulted in water stress, especially under cultivation conditions with Al and pH 4.7. The chemical composition for both cultivars, displayed that cultivation at pH 3.3 alleviated Al and H stress, by improving nutritional status of the plants. For BRS Caldeirão, cultivation with Al reduced the absorption and transportation of nutrients to shoot, mostly P, S, K, Ca and Mg. For BRS Tracuateua, K uptake was improved under conditions of pH 3.3 and without Al, while Al stress reduced the content of nutrients like P, Ca, Mg, Fe and Zn in shoot plant. The stress by the Al and H levels affected proline biosynthesis and accumulation in both genotypes. BRS Caldeirão was tolerant to Al e H levels in nutrient solution, while BRS Tracuateua was less tolerant.

Keywords: Abiotic stress. Plant mineral nutrition. Proline. *Vigna unguiculata*.

2.1 INTRODUÇÃO

O alumínio (Al) é o fator abiótico de estresse mais limitante ao cultivo das plantas agrícolas em solos tropicais e subtropicais (FAGERIA e BALIGAR, 2008; CHEN et al., 2012), podendo causar redução de até 70% na produção vegetal (BOYER, 1982; VORASOOT et al., 2003; THAKUR et al., 2010). Na maioria dos solos ácidos da terra firme, as formas de alumínio tóxico e a deficiência de fósforo (P) coexistem (CHEN et al., 2012). A condição de acidez é o fator responsável pelo aumento das concentrações tóxicas de hidrogênio e alumínio na solução do solo (SAMAC e TESFAYE, 2003), limitando o crescimento e o desenvolvimento das plantas em muitas partes do mundo (FOY, 1984). Atualmente, o estudo dos efeitos do estresse sobre as plantas tem recebido grande atenção dos pesquisadores (BRAY et al., 2000; MITTLER, 2006; THAKUR et al., 2010; CRAMER et al., 2011; CHEN et al., 2012; RAZA et al., 2019). Os estudos na área de nutrição mineral de plantas têm um papel estratégico e de grande importância para compreender esses efeitos, tornando-se fundamental para o desenvolvimento da agricultura nessas regiões.

A maior parte do Al existe no solo na forma de óxidos e aluminossilicatos, sendo essas formas inofensivas para as plantas (MA, 2005), mas dependendo da concentração de hidrogênio (pH), diferentes formas de Al podem ser encontradas, sendo algumas fitotóxicas (AGGARWAL et al., 2015). Dependendo da forma química que predomina na solução, as perdas podem chegar até 80% na produção (MA, 2005; SADE et al., 2016). Em pH ligeiramente alcalino predomina $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ (AGGARWAL et al., 2015; SADE et al., 2016); enquanto que em $\text{pH} \cong 7,0$ predomina formas neutras de Al como $\text{Al}(\text{OH})_0$ associado à fase sólida (gibbsite). Com a diminuição do pH formas de hidróxido mononuclear tais como $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ e $\text{Al}(\text{OH})_2^{2+}$ são formados (AGGARWAL et al., 2015; SADE et al., 2016). Em muitos solos de terra firme da região central da Amazônia o pH varia entre 3,9 e 4,4 (MOREIRA e FAGERIA, 2009; BATISTA, 2014) e nessas condições tende a predominar o íon hexahidrato octaédrico $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, popularmente conhecido como Al^{3+} (AGGARWAL et al., 2015; SADE et al., 2016), cujas concentrações variam de 2,7 a 6 mM, na camada superficial desses solos (BATISTA, 2014). Essa forma de Al é a que apresenta maior efeito negativo no crescimento das plantas, mesmo em concentrações micromolar (HARIDASAN, 2008).

O estresse causado pelo Al pode afetar o metabolismo celular e os processos fisiológicos naturais da planta, resultando em baixo crescimento da parte aérea (FAGERIA et al., 1989; ZHENG, 2010). Tal efeito negativo se dá após danos causados inicialmente ao

sistema radicular (KOCHIAN, 1995), devido à alta sensibilidade das raízes a presença de Al. O Al afeta as raízes inibindo principalmente o crescimento e o desenvolvimento (DELHAIZE e RYAN, 1995). Quando em contato com as raízes, o Al^{+3} tem alta afinidade do pelas cargas dos sítios de ligação da parede celular, e desloca o Ca contido nos pectatos de cálcio, desestabilizando a estrutura e reduzindo a seletividade das membranas celulares (DELHAIZE e RYAN, 1995). Dentro da célula, o Al interage com outros componentes, podendo reduzir a atividade de enzimas, a síntese de ATP e DNA, o que pode causar a inibição da divisão celular e a extensão da célula (NAVASCUÉS et al., 2012), tornando-as atrofiadas e frágeis, havendo baixa formação de pelos radiculares e o ápice das raízes apresenta-se grosso e danificado (HORST et al., 2010), o que contribui para a dificultar a absorção de água, a absorção e o transporte e uso de diversos nutrientes minerais pelas plantas, como nitrogênio ($N-NH_4^+$), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), P, ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu) (ROY et al., 1988; MA, 2005; SADE et al., 2016).

A fotossíntese é o processo fisiológico responsável por promover o crescimento das plantas. Contudo, o estresse abiótico causado por metais tóxicos como o Al em solos ácidos pode afetar negativamente o desempenho fotossintético e reduzir a produtividade das plantas. De acordo com (STRASSER et al., 1995), os componentes do fotossistema II são bastante sensíveis aos fatores de estresse ambiental. A técnica de fluorescência da clorofila *a* pode fornecer informações sobre a eficiência fotoquímica do aparato fotossintético sob condições de estresse (YUSUF et al., 2010), bem como as análises das trocas gasosas. De acordo com a literatura (CRUZ et al., 2011) um dos efeitos do estresse por Al é a redução da atividade de enzimas que atuam no metabolismo do nitrogênio, promovendo também a produção de espécie reativas de oxigênio (ROS) (YAMAMOTO, 2001), o que leva a planta a ativar mecanismos bioquímicos de defesa, como o aumento no conteúdo de prolina (CRUZ et al., 2014). A prolina é um aminoácido que pode desempenhar importante função no metabolismo celular, agindo como osmorregulador dentro da célula e, também, como uma forma de proteção antioxidante (REJEB et al., 2014), constituindo um bom indicador de estresse.

O uso da técnica da calagem tem sido a alternativa mais utilizada pelos produtores para tentar sanar o problema da acidez do solo, no entanto, essa prática corrige apenas as camadas superficiais (0-10 cm) devido à baixa solubilidade do calcário agrícola, limitando o crescimento das raízes para camadas mais profundas onde o Al^{+3} e H^+ em níveis tóxicos predominam na solução do solo. Uma alternativa eficiente seria a seleção e o uso de genótipos

tolerantes (FOY, 1992), que tem o potencial de diminuir os custos de produção com insumos agrícolas, além de reduzir os efeitos negativos do estresse sobre a produtividade das plantas.

A maioria dos estudos sobre o estresse por cátions tóxicos tem focado no efeito isolado do Al, sendo menos frequente o estudo da interação de Al com diferentes níveis de acidez na solução. Conforme a literatura (KINRAIDE et al., 1992), o hidrogênio (H^+) pode desempenhar papel importante no cultivo sob condições ácidas. Acredita-se que a concentração de H pode ter efeitos negativos e também ser bastante efetivo em atenuar efeitos tóxicos de outros cátions, como por exemplo, a toxicidade de íons de Al^{+3} sobre as raízes das plantas (KINRAIDE, 1991; KINRAIDE et al., 1992). O feijão caupi é uma espécie agrícola que se destaca por ser uma importante fonte de alimento e renda para os produtores nas regiões norte e nordeste do Brasil (FREIRE FILHO, 2011; SANTOS et al., 2014), bem como por sua característica genética para estudos de tolerância (AKINRINDE et al., 2006). Tais informações tornam-se relevantes para a seleção de genótipos tolerantes ao estresse, indicando características de adaptação ao cultivo de plantas agrícolas em solos ácidos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi para investigar o efeito da interação entre Al e H sobre a fotossíntese, crescimento, estado nutricional e o acúmulo de prolina nos genótipos BRS Caldeirão e BRS Tracuateua de feijão caupi.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Espécie e condições de crescimento

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também conhecido como feijão-de-praia, feijão-fradinho, feijão-de-corda ou feijão-catador, é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae. Esta espécie é uma planta anual capaz de se desenvolver em solos de baixa fertilidade (FREIRE FILHO, 2011; CORREA et al., 2012). No presente estudo, as plantas de feijão caupi foram cultivadas, durante o período de março a junho de 2018, em casa de vegetação com luz natural e condições ambientais com $612,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fóton fotossintético, fotoperíodo de 12:00 h/12:00 h (dia/noite), temperatura média de $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 70%, localizada na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.

2.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

Foram conduzidos dois experimentos, concomitantemente, utilizando-se como planta teste duas cultivares de feijão caupi (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua). Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial ($2 \times 3 + 1$), sendo dois níveis de Al ($0,0$ e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) e três níveis de pH ($3,3$; $4,0$ e $4,7$), mais um tratamento controle (solução nutritiva com força iônica de aproximadamente $1/4$ da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950), com pH $5,8$ e sem a presença de Al, com três repetições e uma planta por unidade experimental, totalizando 21 plantas, por experimento.

2.2.3 Procedimentos específicos

2.2.3.1 Preparo do substrato e dos recipientes de cultivo

Utilizou-se como substrato areia grossa de rio, passada em peneiras com malha entre 2 mm e 0,5 mm de diâmetro. A areia passou por sucessivas lavagens em água corrente até que a água drenada através desta ficasse incolor. Em seguida a areia ficou submersa em uma solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 24 horas. Posteriormente, esta passou novamente por sucessivas lavagens em água de torneira e finalmente foi lavada em água deionizada até a água drenada apresentar condutividade elétrica (C.E.) $\leq 3 \text{ }\mu\text{S}$. A areia lavada foi seca em condições naturais e acondicionada em vasos plásticos de polietileno, com capacidade volumétrica de $3,5 \text{ dm}^3$. Estes vasos foram pintados externamente com tinta aluminizada para reduzir a absorção de luz e assim evitar o aquecimento do substrato.

2.2.3.2 Obtenção de plantas

Sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* cv. BRS Caldeirão e BRS Tracuateua) foram tratadas com hipoclorito de sódio a 1% (volume/volume-v/v) por cinco minutos. Posteriormente foram lavadas com água deionizada e colocadas em condições submersas em água deionizada, por quatro horas. As sementes tratadas foram colocadas para germinar em bandejas plásticas com dimensões de $60 \times 40 \times 10 \text{ cm}$ (comprimento, largura e altura, respectivamente), utilizando-se como substrato areia de rio lavada (conforme descrito anteriormente). O substrato de germinação foi saturado com uma solução de CaCl_2 $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Cerca de 42 plântulas com 15 dias após a semeadura (DAS), vigorosas e uniformes, foram transplantadas para os recipientes de cultivo.

2.2.3.3 *Pré-cultivo*

Plântulas com 15 DAS foram pré-cultivadas por 30 dias, recebendo uma adubação básica na forma de solução nutritiva, equivalente a 1/10 e 1/4 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950), nos primeiros 10 dias e nos últimos 20 dias de pré-cultivo, respectivamente.

2.2.3.4 *Cultivo - aplicação dos tratamentos e adubação básica de cultivo*

Após a fase de pré-cultivo as plantas receberam os tratamentos e ficaram expostas a essas condições por 27 dias, utilizando como fonte de Al o sulfato de alumínio hexahidratado $[Al_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O]$ e, como fonte de H^+ o ácido clorídrico (HCl - $0,5 \text{ mol L}^{-1}$). O pH da solução de trabalho foi ajustado de acordo com o desenho experimental, antes e após adição do Al, com o uso de NaOH ou HCl, ambos com $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Nessa fase foi fornecida uma adubação básica, na forma de solução nutritiva com força iônica equivalente a 1/4 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950). A composição da solução de nutrientes foi formulada com as seguintes fontes: CH_4N_2O , $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, K_2SO_4 , KCl, KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Fe-EDTA, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, H_3BO_3 , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $H_2MoO_4 \cdot H_2O$. Tanto na fase de pré-cultivo e cultivo, foi fornecido 80% do N na forma de nitrato e o restante na forma de amônio. O pH da solução da solução de pré-cultivo foi mantido em 5,8 enquanto que na fase de cultivo foi ajustado antes e após a adição do Al, conforme a necessidade de cada tratamento (3,3, 4,0 e 4,7) ou 5,8 (tratamento controle), utilizando NaOH ou HCl, ambos 0,2; 0,5 e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

2.2.3.5 *Preparo das soluções*

Tanto as soluções nutritivas de pré-cultivo quanto aquelas de cultivo e tratamentos, foram feitas a partir de soluções-estoque preparadas com reagentes puro para análise (p.a.). As “soluções estoque” de macronutrientes estavam na concentração em mol L^{-1} enquanto os micronutrientes estavam na concentração de mmol L^{-1} . A partir dessas soluções foram pipetados uma alíquota de modo que a solução de trabalho apresentasse a concentração em mmol e $\mu\text{mol L}^{-1}$ para macro e micronutrientes, respectivamente.

2.2.3.6 *Fornecimento e troca de soluções de nutrientes*

A irrigação com solução foi realizada diariamente. O volume de solução nutritiva, foi calculado para atingir no máximo 65% da capacidade de saturação da areia presente no vaso, visando evitar estresse por anoxia. A renovação da solução nutritiva, visando evitar a salinização do substrato, foi realizada a cada sete dias, iniciando com monitoramento da condutividade elétrica (C.E.) da solução nutritiva, lavagem do substrato através do fornecimento de água deionizada, até que a água drenada dos vasos apresentassem C. E. ≤ 3 μS , em seguida era feita renovação da solução de cultivo e reaplicação dos tratamentos.

2.2.4 **Avaliação do experimento**

Foi feito após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos, por meio de medições de alterações nos parâmetros fotossintéticos, parâmetros de crescimento e desenvolvimento, produção de matéria seca, teor de prolina e estado nutricional das plantas, conforme procedimentos metodológicos descritos a seguir.

2.2.4.1 *Avaliação das trocas gasosas*

A fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) e a concentração de CO_2 interno (C_i) foram obtidas entre 09:00h e 12:00h, utilizando a terceira folha (a partir do ápice do ramo) totalmente expandida, em ramos localizados na região intermediária de cada planta, utilizando analisador de gás infravermelho (IRGA - LICOR 6800) portátil, conforme metodologia descrita por Santos Júnior et al. (2006). O aparelho foi ajustado com uma densidade de fluxo de fótons saturante (PPFD) de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fluxo de CO_2 de $400 \mu\text{mol s}^{-1}$, temperatura de 27°C e umidade a 50%. A partir dos dados da A e C_i foi calculado a eficiência interna de carboxilação (EIC), utilizando-se a seguinte fórmula: $\text{EIC} = A/C_i$.

2.2.4.2 *Fluorescência da clorofila a*

Os parâmetros de fluorescência da clorofila a , o índice de desempenho na base ABS (PI_{ABS}) e o índice de desempenho total (PI_{total}) foram medidos entre 8:30h e 9:00h, em folhas jovens totalmente expandidas, em ramos localizados na região intermediária de cada planta. As determinações foram feitas por meio de um fluorômetro portátil (PEA, MK2 - 9600 -

Hansatech, Norfolk, UK). As folhas selecionadas para análise foram submetidas a um período de adaptação ao escuro durante 30 minutos, utilizando cliques apropriados. Em seguida, foram expostas a um pulso de luz saturante de alta intensidade luminosa ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e comprimento de onda de 650 nm por s^{-1}). Assim, as respostas relacionadas aos transientes da fluorescência da clorofila *a* foram obtidas a partir de software específico (Handy PEA software - v 1.30), e os valores referentes ao transiente polifásico O-J-I-P foram utilizados para os cálculos das variáveis eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) (STRASSER et al., 2010).

2.2.4.3 *Parâmetros de crescimento*

O comprimento absoluto da parte aérea (CPA), desde a base do coleto até a gema apical da planta, foi obtido com o auxílio de uma régua graduada em cm. O diâmetro do coleto (DC), foi medido com um paquímetro digital (King Tools 0 - 200 mm), a 0,5 cm da superfície da areia. O número de folhas (NF) foi obtido por contagem. Em seguida as plantas foram colhidas a 0,5 cm da superfície do substrato, separando-as em parte aérea (folhas + ramos + caule) e raízes. Posteriormente foi mensurado o comprimento da raiz (CR) com auxílio de uma régua graduada, em cm. Finalmente, as diferentes partes foram lavadas em água deionizada e secas em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura de $65 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingirem massa constante. Após a secagem foi determinada a massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raízes (MSR), utilizando-se balança com precisão de 0,001 g. A MSR foi dividida pela MSPA para obtenção da relação raiz/parte aérea (RRPA).

2.2.4.4 *Teor de prolina*

Foi determinado na parte aérea e nas raízes, conforme Bates et al. (1973), com adaptação de Leite et al. (2000). As amostras da MSPA e MSR foram maceradas com o uso de pistilo num almofariz e homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfossalicílico 3% (p/v). Em seguida a mistura foi transferida para tubos de microcentrífuga (15 mL) e centrifugada a 6000 rpm por 30 min. Foram coletados 2 mL do sobrenadante e transferidos para tubos de microcentrífuga de 15 mL; onde foram acrescentados 2 mL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial concentrado). Em seguida, os tubos, hermeticamente fechados, foram levados ao banho-maria a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Após esse período, os tubos foram colocados em recipientes contendo gelo para finalizar a reação. Após

a reação ser interrompida, cada tubo recebeu 4 mL de tolueno e em seguida foram agitados (15 a 20 segundos). Os tubos foram deixados em repouso até a mistura formar duas fases, posteriormente o sobrenadante foi pipetado em três eppendorf. A leitura destas amostras foi feita em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando-se a ninhidrina como branco. A concentração de prolina foi estimada com o auxílio de curva padrão previamente estabelecida, sendo os resultados obtidos expressos em micromol de prolina por grama de matéria seca ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$).

2.2.4.5 Avaliação do estado nutricional

A MSPA e MSR foram moídas em moinho tipo Willey para serem analisadas quimicamente quanto aos elementos nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), enxofre (S), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), boro (B) e cobre (Cu). A determinação da concentração de nutrientes na MSPA e MSR das plantas foi realizada da seguinte forma: uma amostra de 0,5 g foi cuidadosamente pesada e digerida usando 5 mL de uma mistura de HNO_3 e HCl na relação 2:1 (v/v), utilizando macro tubos de digestão (80 mL) sobre um bloco de digestão, na temperatura de 210 °C. P foi determinado por espectrofotometria visível ($\lambda = 680 \text{ nm}$) (espectrofotômetro Micronal® modelo B-580); K foi determinado por fotometria de chama (fotômetro Micronal® modelo B-462); Ca, Mg, Zn, Cu, Fe e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (GBC, modelo Avanta Sigma, Austrália). Para determinação de N, amostras de 0,1 g foram digeridas em 2 mL de H_2SO_4 + 0.5 ml de H_2O_2 sobre bloco digestor a 200 °C, e a solução digerida foi alcalinizada com excesso de uma solução de NaOH . A amônia foi destilada usando um o processo semi-micro-Kjeldahl (Marconi, MA036, Brasil) e titulado usando 0,02 mol L^{-1} H_2SO_4 . S foi extraído com BaCl_2 em 1 ml de uma solução ácida (HCl 6 mol L^{-1} + 20 mg L^{-1} de S) e determinado pelo método turbimétrico ($\lambda = 420 \text{ nm}$). O B foi determinado pelo método colorimétrico curcumina ($\lambda = 540 \text{ nm}$) (MALAVOLTA et al., 1997).

2.2.5 Análise dos dados

Os dados foram testados quanto à normalidade pelo método de Shapiro-Wilk (1965) ($P > 0,05$) e posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando o F foi significativo ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Quando se constatou diferença significativa na interação entre o tratamento controle vs demais

tratamentos, a média de cada tratamento foi comparada com a média do tratamento controle pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Interação Al x pH

2.3.1.1 Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Caldeirão)

Houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) de interação entre os fatores Al e pH sobre os teores de P, S e Fe na parte aérea das plantas e, efeito isolado do fator Al sobre os teores de Ca, Mg e Mn, bem como do fator pH sobre o teor de Mn.

Em relação ao teor na parte aérea, nota-se pelo desdobramento do fator Al dentro do fator pH, que os teores de P e Fe foram significativamente ($P \leq 0,05$) maiores na ausência de alumínio comparativamente ao cultivo na presença de 1 mmol L^{-1} de Al, independentemente do nível de pH (Figura 1A e 1E). Por outro lado, os níveis de Al não influenciaram significativamente o teor de S na parte aérea das plantas, exceto no maior nível de pH, onde o teor de S foi maior na ausência de Al (Figura 1C).

Quanto ao desdobramento do fator pH dentro do fator Al, observou-se que os níveis de pH não influenciaram os teores de P e S quando as plantas foram cultivadas na ausência de Al, porém, na presença deste metal houve uma redução nos teores a medida em que aumentou os níveis de pH (Figura 1B e 1D). Comportamento oposto foi observado para o Fe, onde na ausência de Al o pH 4,0 proporcionou maiores teores de Fe, enquanto que os valores de Fe no menor e maior pH não diferiram entre si. Já na presença de Al os diferentes níveis de pH não influenciaram os teores de Fe na parte aérea (Figura 1F).

Na ausência de Al, os teores de P na parte aérea ficaram acima da faixa considerada adequada, enquanto que nas plantas submetidas ao Al e pH 4,7, os teores ficaram abaixo dessa faixa (Figura 1B), conforme os níveis propostos por (MALAVOLTA et al., 1997). Quanto ao enxofre, os teores ficaram acima da faixa ideal, independente da ausência ou presença de Al na solução (Figuras 1C e 1D). Em relação ao teor de Fe, tanto na ausência como na presença de Al, os teores ficaram abaixo da faixa adequada (Figuras 1E e 1F).

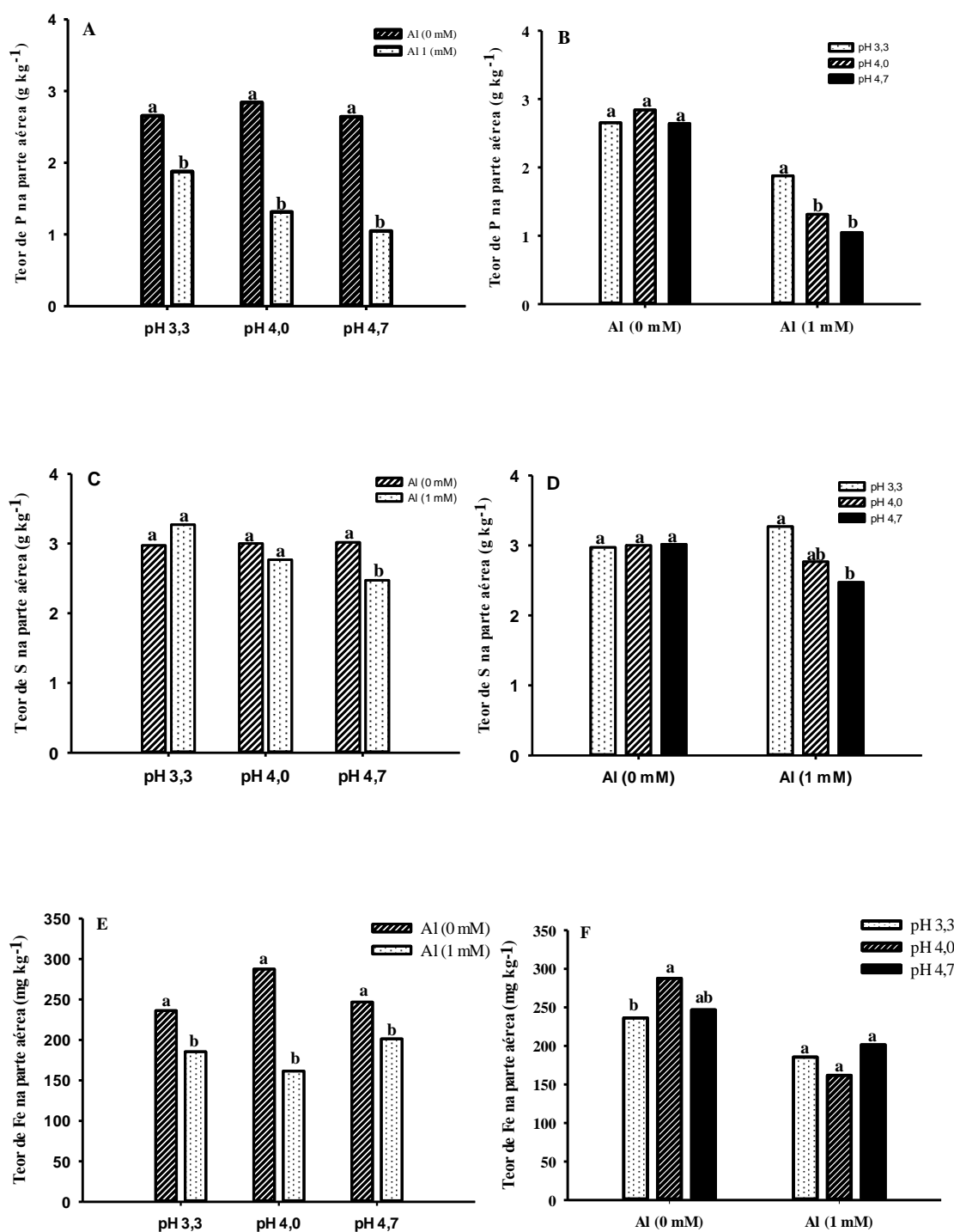


Figura 1. Teor de fósforo (P) (A e B), enxofre (S) (C e D) e ferro (Fe) (E e F) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH e efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al, respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto ao efeito isolado do Al sobre os teores de Ca, Mg e Mn na parte aérea, observou-se maiores valores médios na ausência de Al (Figura 2A-2C). Nas plantas expostas ao estresse por Al, a redução dos teores na parte aérea foi da ordem de 32,92% para Ca, 21,27% Mg e 12,09% Mn. Em relação ao efeito do pH nos teores de Mn na parte aérea, nota-se que houve uma redução nos valores a medida em que houve um aumento nos valores de pH (Figura 2D), havendo uma redução no pH 4,7 comparativamente ao pH 3,3.

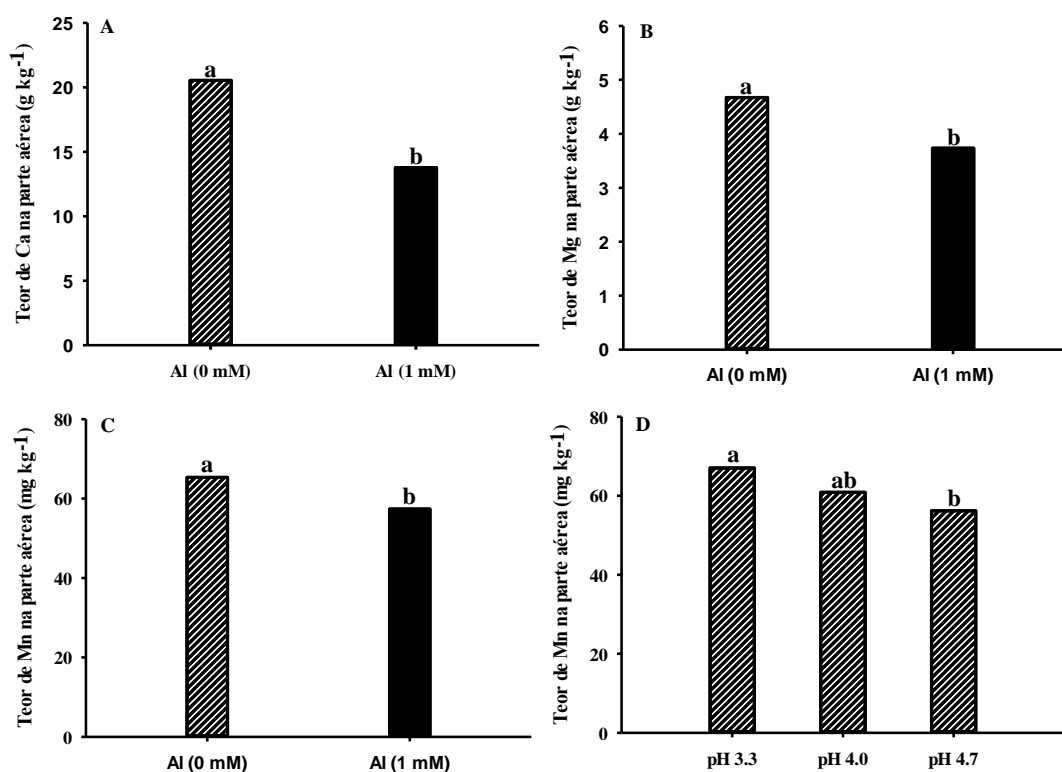


Figura 2. Teores de cálcio (Ca) (A), magnésio (Mg) (B) e Manganês (Mn) (C) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função das concentrações de alumínio e teores de Mn (D) em função dos níveis de pH, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) da interação entre os fatores Al e H sobre os teores de P, K, Ca e Mg nas raízes das plantas e, havendo apenas efeito isolado do fator Al. Quanto ao efeito do fator Al, notamos que os maiores valores dos teores destes elementos foram observados quando as plantas foram cultivadas na ausência do Al (Figura 3). A redução nos teores de P, K, Ca e Mg foi de cerca de 26,62%, 12,06%, 33,07% e 27,69%, respectivamente. Tanto na ausência como na presença de Al, os teores de Ca, Mg e Mn na parte aérea ficaram abaixo da faixa considerada adequada, conforme os níveis indicados por Cavalcante et al. (2008).

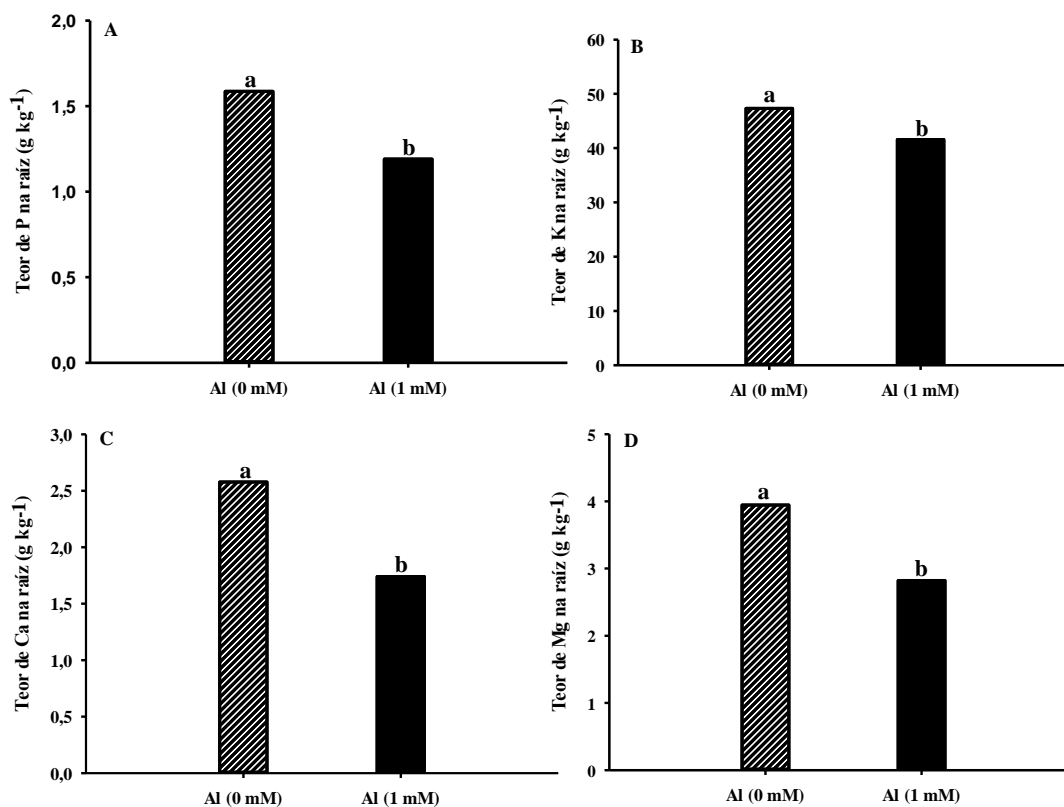


Figura 3. Teor de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) nas raízes do feijão caupi cv. BRS Caldeirão em função do efeito das concentrações de Al, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

2.3.1.2 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

O desdobramento do efeito da interação (fatorial vs adicional) sobre os parâmetros do estado nutricional das plantas mostra que a nutrição mineral de P e Mg tiveram comportamento semelhante (Figuras 4A e 4C), apontando que os teores desses nutrientes na parte aérea das plantas dos tratamentos utilizando Al (T4, T5 e T6) foram inferiores quando comparado ao teor médio das plantas do controle. As plantas dos tratamentos com níveis de pH e sem Al (T1, T2 e T3) não apresentaram diferença significativa quanto aos teores desses nutrientes, comparativamente ao observado no controle (Figuras 4A e 4B).

No que diz respeito a nutrição mineral de Mg e Mn, nota-se que os teores na parte aérea foram significativamente inferiores no T5 e T6 quando comparado ao tratamento controle, enquanto os tratamentos T1 a T4 não diferiram (Figuras 4C e 4E). Quanto ao teor de S na parte aérea das plantas, constatou-se que apenas no tratamento T6 o teor desse nutriente

foi significativamente menor quando comparado ao controle, enquanto nos demais não foi observado diferença significativa (Figura 4D).

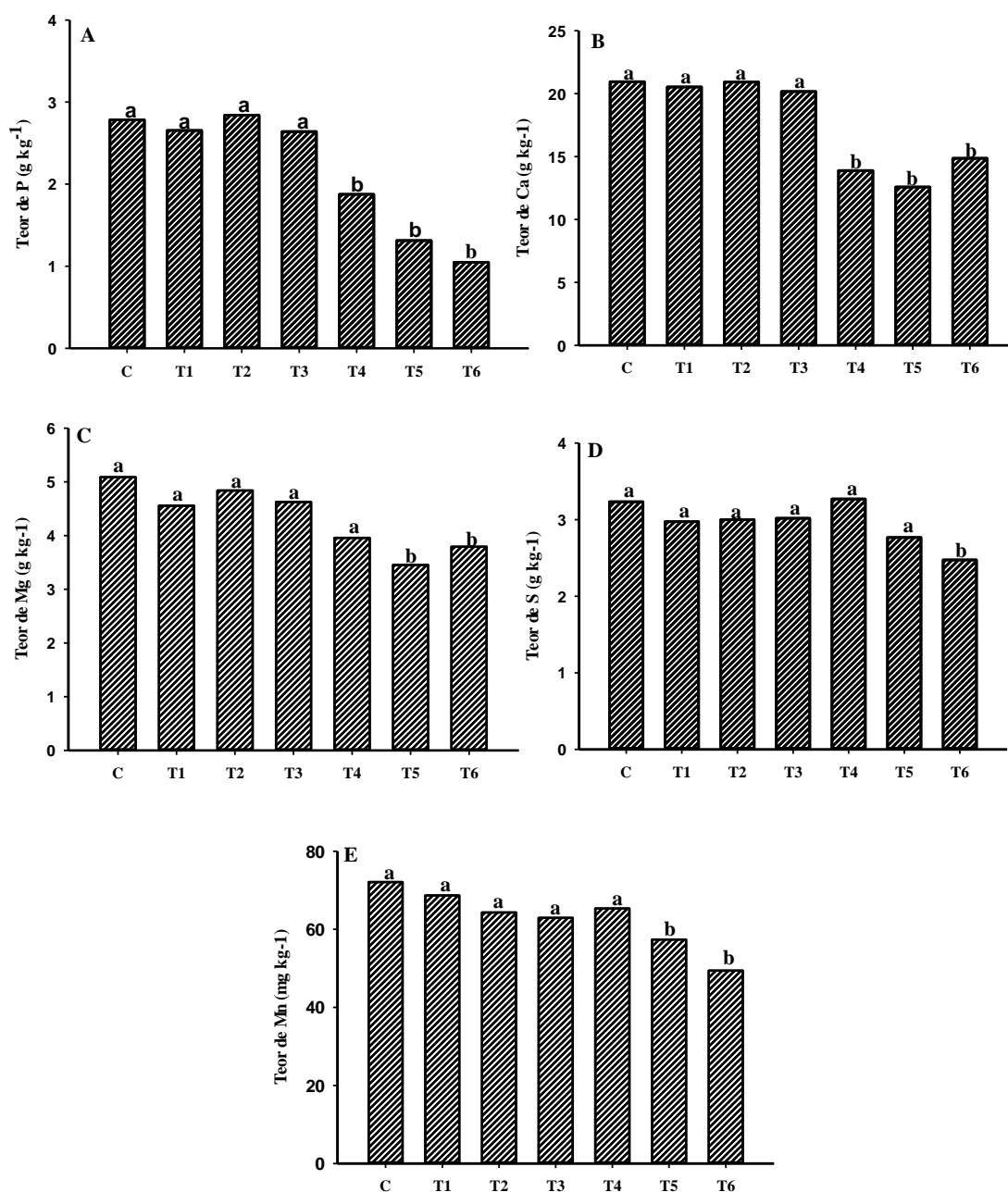


Figura 4. Contrastes médios dos teores de fósforo (P) (A), cálcio (Ca) (B), magnésio (Mg) (Mg), enxofre (S) (D) e manganês (Mn) (E) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Em relação ao teor de nutrientes na raiz das plantas de feijão caupi, observa-se que o teor de N dos tratamentos T1, T3 e T6 foram significativamente reduzidos em comparação ao

controle (Figura 5A). Essa redução foi de aproximadamente 35,90, 33,08 e 39,60%, respectivamente. O teor de N nas plantas dos tratamentos T2, T4 e T5 não tiveram diferença significativa. Para o teor de cálcio na raiz (Figura 5B), observa-se que apenas as plantas do T5 tiveram redução significativa no conteúdo desse nutriente quando comparado ao controle, enquanto os demais não difeririam. Observou-se que o teor de boro na raiz das plantas foi significativamente menor no T3, T5 e T6, quando comparado ao tratamento adicional. Para os demais tratamentos, o teste de Dunnett não constatou diferença significativa (Figura 5C).

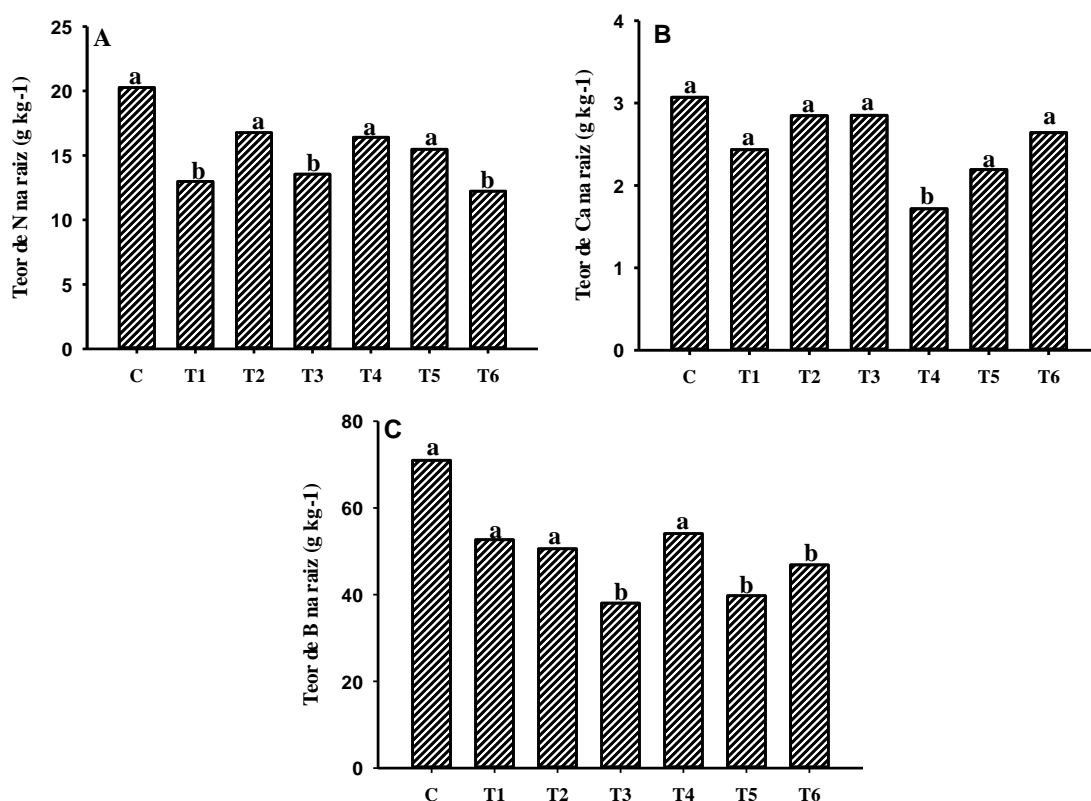


Figura 5. Contrastes médios dos teores de nitrogênio (N) (A), cálcio (Ca) (B) e boro (B) (C) nas raízes do feijão caupi cv. Caldeirão, em função do efeito das tratamentos T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento congntrole (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

2.3.1.3 Teor de nutrientes na parte aérea das raízes (Cultivar BRS Tracueteua)

Houve efeito significativo da interação entre os níveis de Al e pH apenas sobre o teor de K na parte aérea das plantas, sendo observado também efeito isolado do fator Al sobre os teores de P, Ca, Mg, Fe e Zn, bem como do fator pH sobre os teores de Mg e Zn. Quanto ao teor de K na parte aérea, observa-se que o comportamento do fator Al foi influenciado pelo

fator pH apenas no nível de pH 3,3, onde as plantas tratadas sem Al apresentaram maior teor de K comparativamente aquelas cultivadas na presença de Al (Figura 6A).

Não houve efeito significativo da presença de Al no comportamento do pH. Mas, observou-se que na solução com ausência de Al o teor de K foi significativamente superior nas plantas cultivadas com solução a pH 3,3, havendo redução significativa desse teor no pH 4,0, enquanto que no nível de pH 4,7 não foi observado diferença (Figura 6B).

Vale destacar que independentemente da presença ou ausência de Al, os teores de K na parte aérea ficaram abaixo da faixa considerada ideal, entre 30-35 g kg⁻¹, conforme proposto por Malavolta et al. (1997).

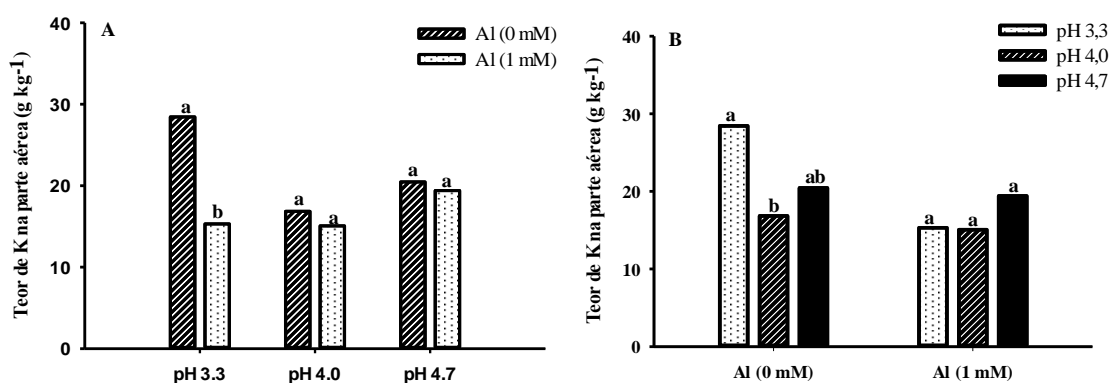


Figura 6. Teor de potássio (K) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B), respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em relação ao efeito isolado do fator Al sobre o teor de nutrientes, observa-se que a presença de Al (1 mmol L⁻¹) na solução de cultivo reduziu significativamente os teores de P, Ca, Mg, Fe e Zn na parte aérea das plantas (Figuras 7A-7E). A redução foi de aproximadamente 42,73, 22,88, 14,15, 23,45 e 17,18% para P, Ca, Mg, Fe e Zn, respectivamente. De modo geral, houve maior redução no teor de P, seguido por Fe, Ca, Zn e Mg. Quanto ao efeito isolado do fator pH, observa-se que o teor de Mg na parte aérea foi significativamente reduzido quando o cultivo das plantas feito em pH mais ácido (3,3 e 4,0). Comportamento oposto foi observado para o Mn, pois à medida que aumentou o pH da solução de cultivo, houve uma redução na absorção deste elemento.

Quanto aos teores de nutrientes nas raízes das plantas, houve apenas efeito isolado do fator Al sobre os teores de P, Ca e Fe e efeito isolado do fator pH apenas sobre o teor de Ca.

Quanto ao efeito do Al, observa-se que houve uma redução significativa ($P < 0,05$) nos teores de P, Ca e Fe nas raízes quando as plantas foram cultivadas na presença de Al (1 mM) (Figuras 8A-8C). Essa redução dos teores nas raízes foi de aproximadamente 34,37%; 19,55% e 23,31% para P, Ca e Fe, respectivamente. Este comportamento foi semelhante ao observado para o teor desses elementos na parte aérea das plantas (Figuras 7A, 7B e 7D), bem como para o teor de P que foi o elemento que sofreu maior redução, seguido pelo Fe e Ca.

Em relação ao efeito do pH da solução de cultivo sobre o teor de Ca nutrientes nas raízes, nota-se que, de modo geral, houve um aumento nos valores a medida em que se eleva o pH da solução (Figura 8D). O ganho no teor de Ca radicular foi de aproximadamente 24,40% no pH 4,7 comparativamente ao pH 3,3.

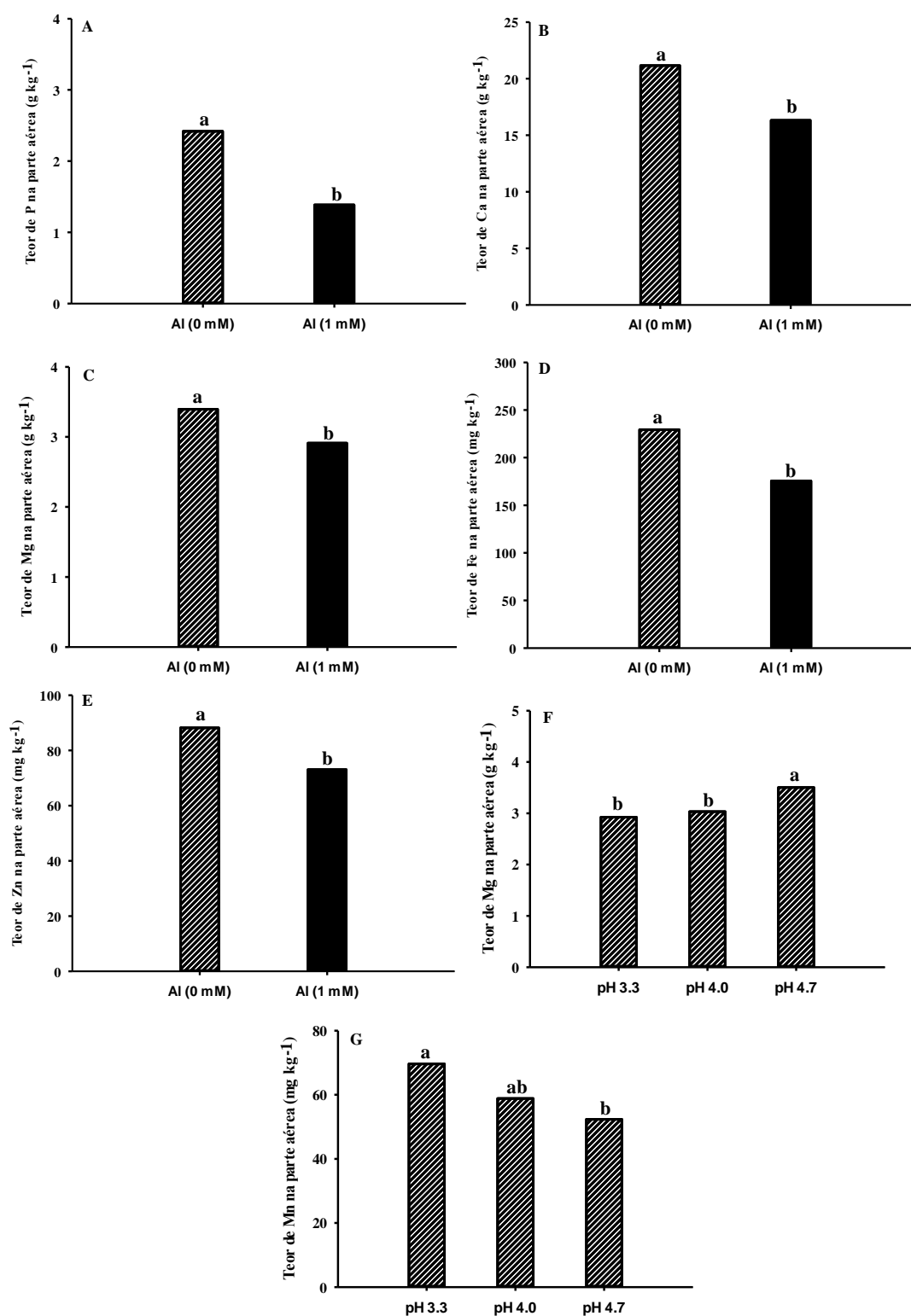


Figura 7. Teor de fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito da concentração de Al (A, B, C, D e E) e níveis de pH (F e G), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

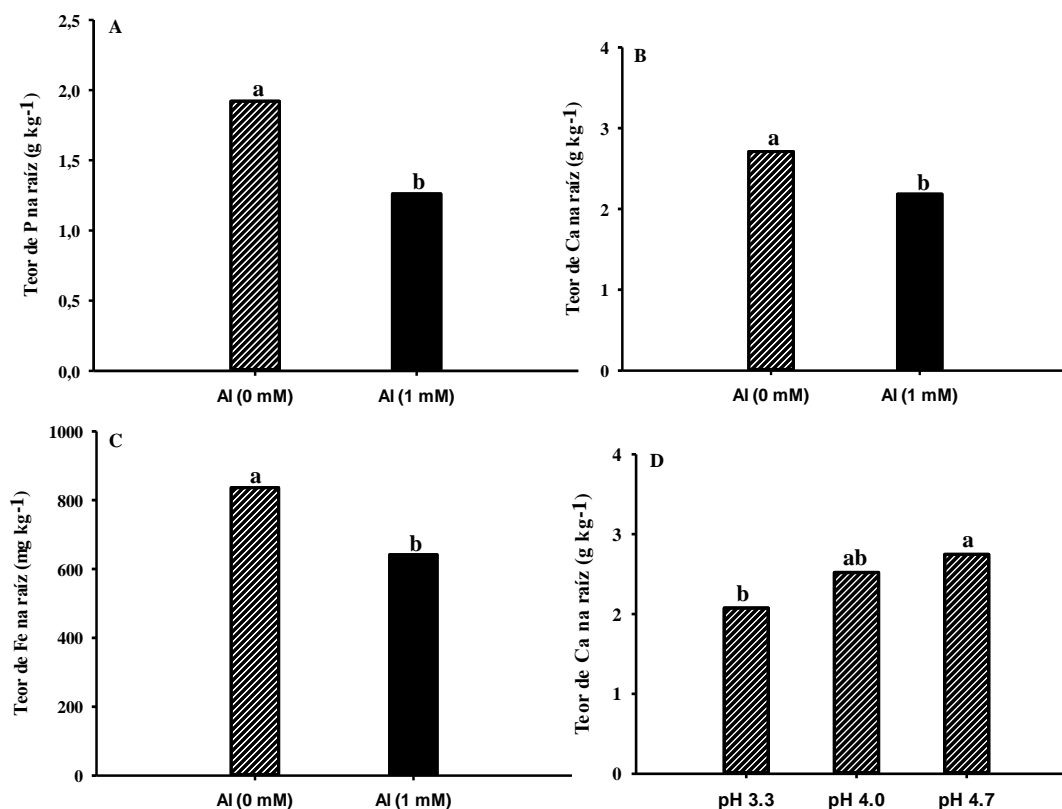


Figura 8. Teor de fósforo (P), cálcio (Ca) e ferro (Fe) nas raízes do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito da concentração de Al (A, B, C) e níveis de pH (D), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

2.3.1.4 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

Em relação ao pareamento da média do tratamento controle versus a média dos demais tratamentos na variável teores de nutrientes nas raízes, nota-se que o efeito dos elementos foi dependente de cada nutriente. Em relação ao N, observa-se que o tratamento-1, tratamento-3 e tratamento-6 não diferenciaram significativamente entre si e promoveram os menores valores comparado ao tratamento controle que não diferenciou do tratamento-2, tratamento-4 e tratamento-5 (Figura 9A). Quanto ao Ca, o tratamento-4 proporcionou o menor valor de teor radicular comparativamente o tratamento controle que não diferenciou dos demais tratamentos (Figura 9B). No caso do B, o tratamento-3, tratamento-5 e tratamento-6 não diferenciaram entre si e promoveram os menores valores no tecido radicular comparativamente ao tratamento controle que não diferenciou dos demais tratamentos (Figura 9C).

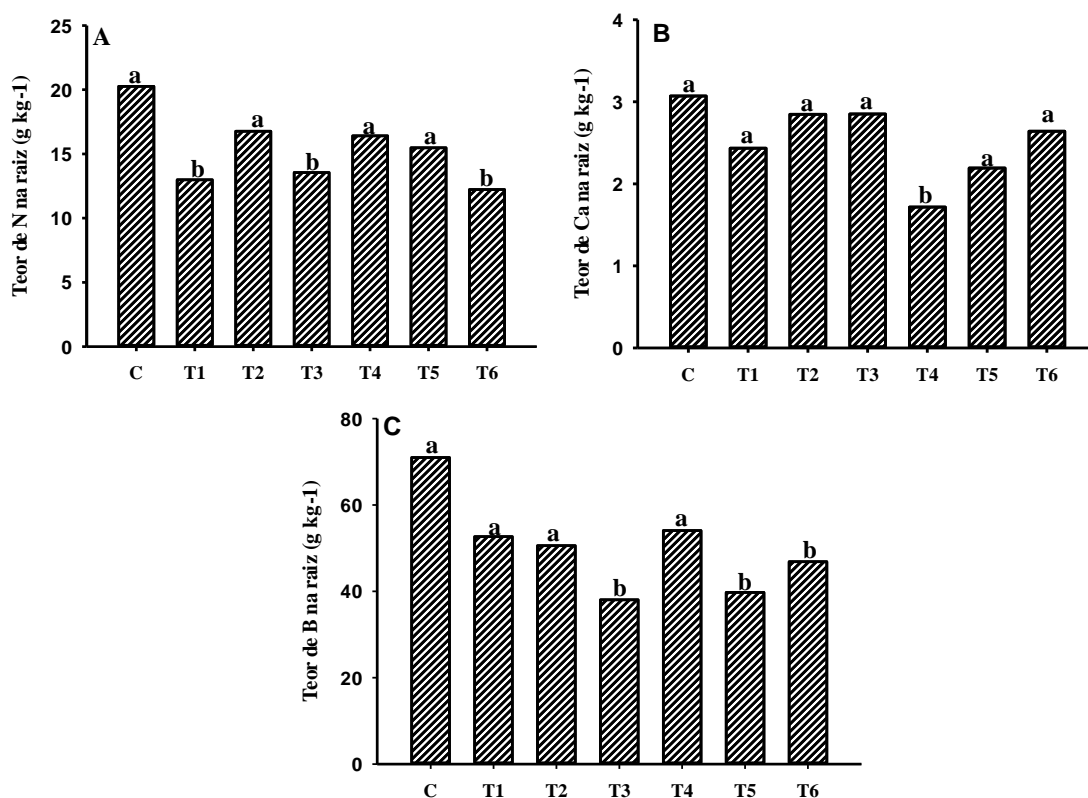


Figura 9. Contrastes médios dos teores de nitrogênio (N), cálcio (Ca) e boro (B) na raiz do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito das tratamentos [T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

2.3.1.5 Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)

Houve efeito significativo da interação entre os fatores Al e pH sobre a concentração de carbono interno (C_i) e apenas efeito isolado do fator pH sobre as variáveis fotossíntese líquida (A) e eficiência interna de carboxilação (EIC). Desdobrando o efeito dos níveis de Al dentro do fator pH, nota-se que a C_i foi maior na ausência de Al, nos valores de pH 3,3 e 4,0, enquanto que a presença e ausência de Al no pH 4,7 não teve impacto sobre a C_i (Figura 10A).

O efeito dos níveis de pH sobre a C_i foi pouco dependente da concentração de Al na solução nutritiva, exceto na solução com ausência de Al, onde no pH 4,7 ocorreu redução no valor de C_i comparativamente aos valores de pH 3,3 e 4,0 (Figura 10B).

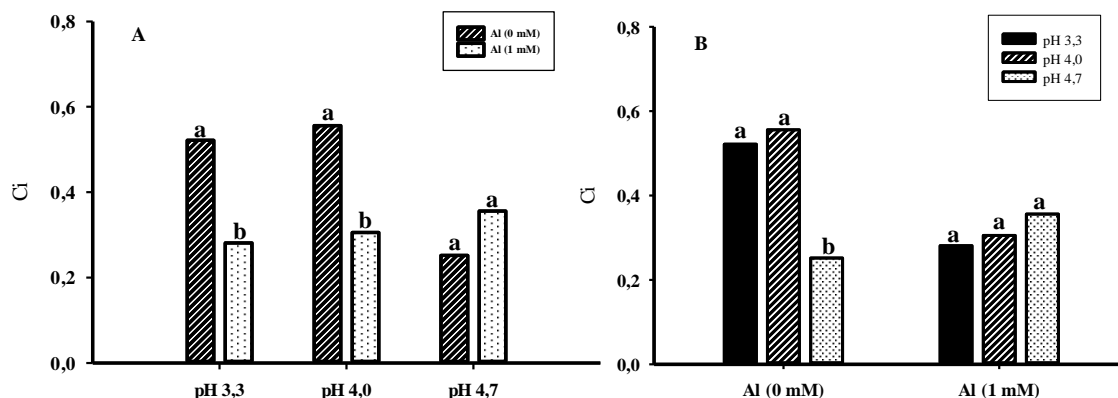


Figura 10. Concentração de carbono interno (Ci) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B), respectivamente. Após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em relação ao efeito do pH sobre as variáveis A e EIC, nota-se que o pH 4,7 reduziu os valores tanto de A quanto de EIC, mas não houve diferença nos valores dessas variáveis nos níveis de pH 3,3 e 4,0. No pH 4,7 houve uma redução de cerca de 18,84%. Enquanto a redução de EIC foi de aproximadamente 20,0%, quando comparado com o valor encontrado no nível de pH 4,0 (Figura 11A e 11B).

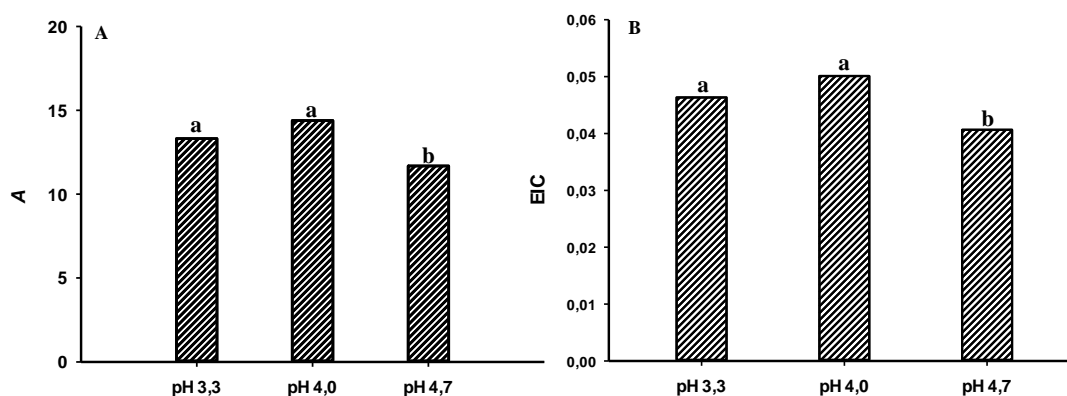


Figura 11. Fotossíntese líquida (A) e eficiência interna de carboxilação (EIC) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função de níveis de pH da solução nutritiva, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.1.6 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

Contrastando a média de PI_{total} , A e EIC do tratamento controle com as médias dos demais tratamentos, observa-se que o tratamento T5 proporcionou o menor valor PI_{total} em comparação ao demais tratamentos, que não diferiram entre si (Figura 12A). A redução desse índice de desempenho fotoquímico nas plantas no tratamento T5 foi de aproximadamente 32,16%, comparativamente ao índice das plantas do controle (tratadas com solução completa a pH 5,8). Por outro lado, os menores valores de EIC e A foram apresentados nos tratamentos T3 e T6 (Figura 12B e 12C), sendo que este último não diferiu do tratamento T4 a variável A. De modo geral, houve uma redução de 25,0 e 17,30% nos valores de EIC nos tratamentos T3 e T6 comparativamente ao tratamento controle, enquanto que a redução nos valores de A comparativamente ao tratamento controle foram de 25,33% (T3), 14,81% (T4) e 17,91% (T6).

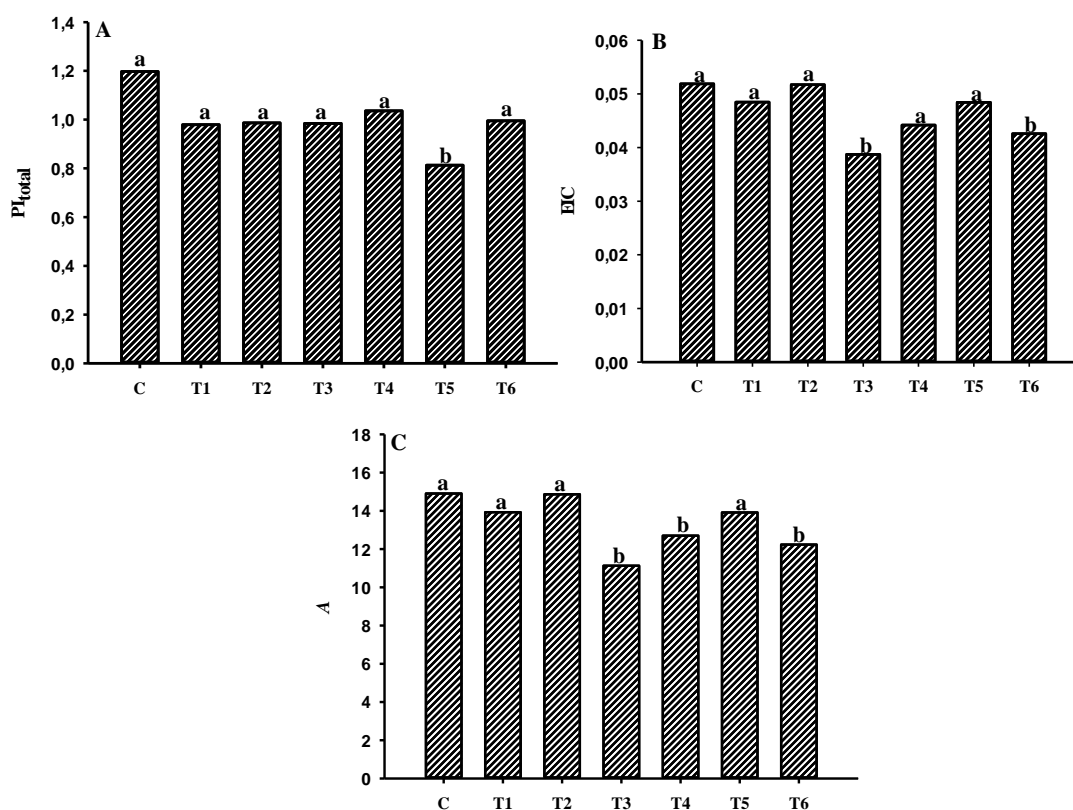


Figura 12. Contrastes médios do índice de desempenho (PI_{total}) (A), eficiência interna de carboxilação (EIC) (B) e a fotossíntese líquida (A) (C) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos [T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

2.3.1.7 Parâmetros fotossintéticos (*BRS Tracueteua*)

Houve efeito significativo da interação entre os fatores Al e pH sobre a transpiração (E) e condutância estomática (g_s) do feijão caupi. Observa-se pelo desdobramento do fator Al dentro do fator pH, que houve diferença significativa na taxa de transpiração apenas no pH 4,7, sendo que as plantas expostas ao Al (1 mM) apresentaram menor taxa de E (Figura 13A). O desdobramento do fator pH dentro do fator Al mostra que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na taxa de transpiração entre os níveis de pH, tanto na ausência quanto na presença de Al (Figura 13B).

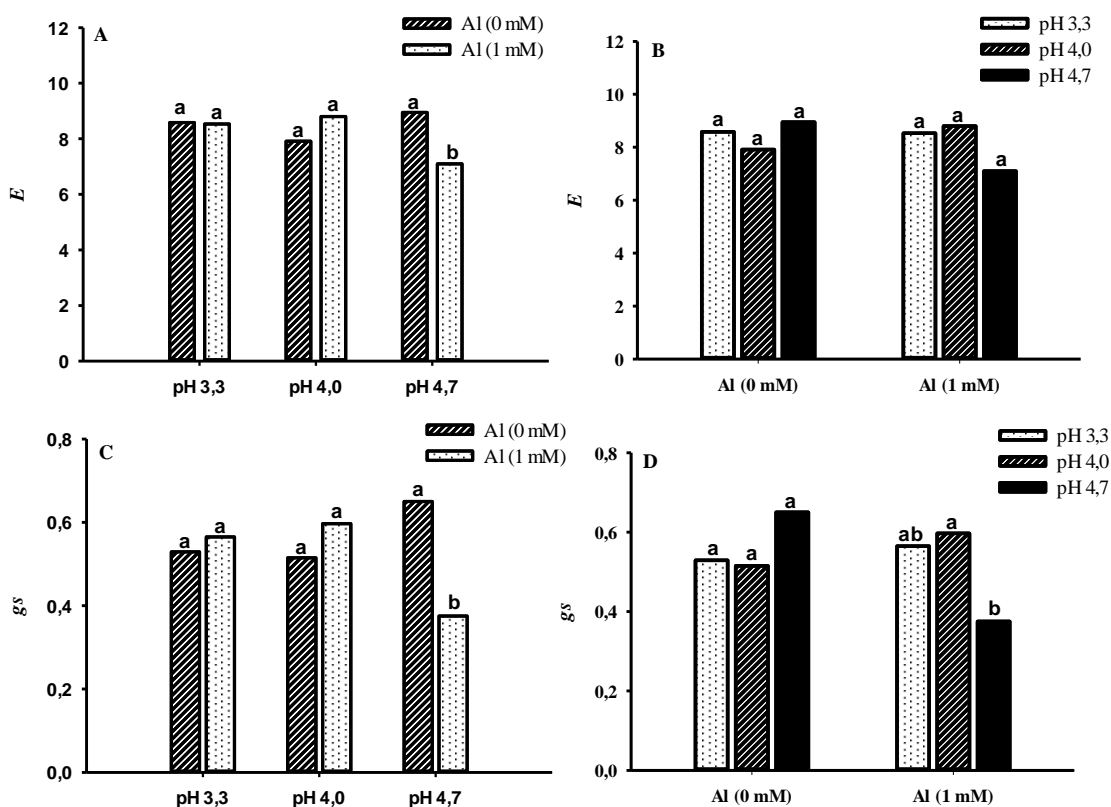


Figura 13. Transpiração (E) e condutância estomática (g_s) do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito das concentrações de Al dentro de níveis de pH (A e C) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Al (B e D), respectivamente, após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras dentro do fator Al ou pH não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em relação ao parâmetro condutância estomática (g_s), observa-se que no nível de pH 4,7 as plantas expostas ao Al (1 mM) tiveram redução significativa em g_s , enquanto nos níveis de pH 3,3 e 4,0 não foi constatada diferença significativa entre as plantas tratadas com presença e ausência de Al (Figura 13C). Além disso, nota-se pelo desdobramento do fator pH dentro do fator Al (Figura 13D), que na ausência de Al não foi constatada diferença

significativa em *gs* entre os níveis de pH, entretanto, na presença de Al (1 mM), constatou-se uma redução significativa em *gs* no pH 4,7, em relação ao pH mais ácido (3,3). Na presença de 1 mmol L⁻¹ de Al, a *gs* não teve diferença significativa para as plantas cultivadas em pH 4,0.

2.3.1.8 Teor de prolina (BRS Caldeirão)

Não houve efeito da interação entre os fatores Al e pH sobre o teor de prolina na parte aérea, contudo, foi constatado efeito isolado tanto dos níveis de pH quanto da concentração de Al. Observa-se que o pH teve pouco efeito sobre o teor de prolina. De modo geral, o pH 4,0 proporcionou o menor valor de prolina, mas que não diferenciou significativamente do pH 4,7 (Figura 14A). Nos níveis de pH 3,3 e 4,7 foi constatada a concentração de 40,05 e 38,98 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS, respectivamente, indicando que houve uma redução no conteúdo de prolina em 15,48% no pH 4,0.

Por outro lado, a presença de Al influenciou fortemente o teor de prolina, promovendo redução na produção deste aminoácido quando as plantas foram cultivadas (Figura 14B), sendo que essa redução foi de aproximadamente 13,67%.

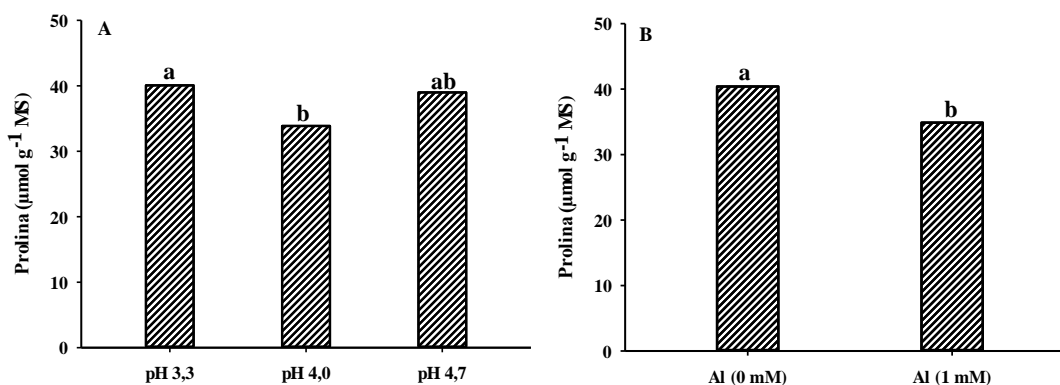


Figura 14. Teor de prolina na parte aérea do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito dos níveis de pH (A) e concentração de Al (B), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.1.9 Teor de prolina (BRS Tracueteua)

Não houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) dos tratamentos sobre o teor de prolina na parte aérea, contudo nos tecidos das raízes houve efeito da interação entre fatorial e tratamento adicional. O contraste da média do tratamento controle com as médias dos demais tratamentos é apresentado na Figura 14. Em relação ao teor de prolina nas raízes, observa-se

que o tratamento adicional (C) foi superior aos tratamentos T1, T2, T3 e T5, enquanto que os tratamentos T4 e T6 não diferiram significativamente (Figura 15).

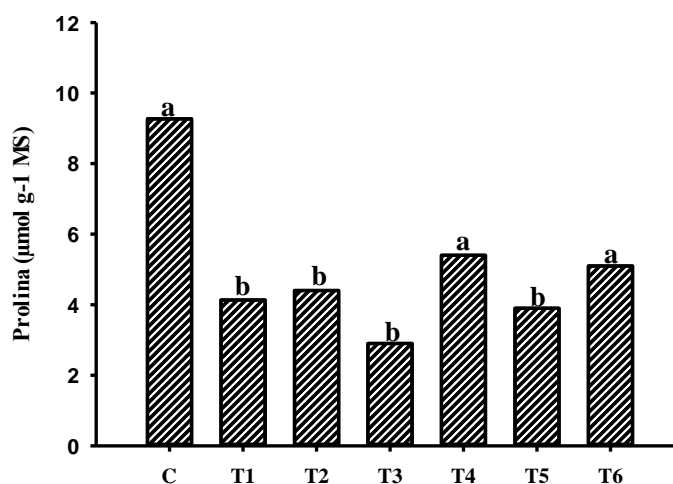


Figura 15. Contrastes médios do teor de prolina na raiz do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito dos tratamentos: T1-(0:3,3); T2-(0: 4,0); T3-(0:4,7); T4-(1:3,3); T5-(1:4,0); T6-(1:4,7) - níveis de alumínio e pH, respectivamente e tratamento congntrole (C), após 27 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

2.3.1.10 Crescimento e produção de biomassa (BRS Caldeirão e BRS Tracueteua)

Não houve efeito significativo da interação entre os fatores Al e pH, nem dos fatores isolados concentração de Al e níveis de pH sobre as variáveis de crescimento CPA, CR, NF, DC, MSPA, MSR e relação MSR/MSPA.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Interação Al x pH

2.4.1.1 Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Caldeirão)

De acordo com Kochian et al. (2004), o Al em solução ácida pode causar efeito negativo sobre o crescimento das raízes e inibir a absorção de macro e micronutrientes. No presente estudo, a interação de Al e pH revelou que o estresse abiótico teve maior impacto negativo sobre a redução dos teores de P e S, notadamente quando cultivas no pH 4,7, o que pode estar relacionado a uma maior atividade química do íon Al^{3+} nesse nível de acidez (pH) da solução de cultivo. O menor efeito de toxidez observado no pH mais ácido, provavelmente,

se deve a maior concentração de H^+ na solução de cultivo, que reduziu a toxicidade e a atividade do Al^{3+} sobre as raízes, melhorando a absorção e o transporte de P e S para a parte aérea das plantas. O efeito inibitório do Al^{3+} sobre o teor de P tem importante implicação no cultivo de plantas nos solos ácidos de regiões tropicais, levando a redução da produtividade de espécies agrícolas (FAGERIA e CARVALHO, 1982). Vale destacar, que o P atua na estabilidade das membranas celulares e na síntese de DNA e RNA, além de ser fundamental nos processos fisiológicos de respiração e fotossíntese (TAIZ e ZEIGER, 2008). Em relação ao teor de S, uma redução do teor desse nutriente na parte aérea das plantas pode levar a deficiência e conseqüentemente a diminuir a síntese de proteínas e a taxa de crescimento vegetal (VITTI et al., 2006). O cultivo sob condições de pH ácido também teve efeito da interação dos tratamentos sobre o teor de Fe, reduzindo o conteúdo na parte aérea do feijão caupi, especialmente na presença do fator Al. Foy e Fleming (1982) reportaram que o Al em pH ácido pode levar a deficiência de Fe e interferir na absorção e/ou o uso do Fe pelas plantas. Ainda, de acordo com Bojórquez-Quintal et al. (2017), em solos ácidos com alta disponibilidade de Fe e Mn, a interação com Al poderia prevenir a toxidez por esses metais.

A presença de alumínio na solução de crescimento tende a afetar a absorção e o transporte para parte aérea de minerais essenciais para o metabolismo das plantas, tais como P, Ca e Mg (FAGERIA e CARVALHO, 1982; LÓPEZ-BUCIO et al., 2000), como foi constatado no presente estudo. Sob condições de estresse por Al (1 mM) na solução nutritiva, os baixos teores de Ca, Mg e Mn encontrados na parte aérea do feijão caupi evidenciaram o efeito nocivo deste metal sobre a nutrição mineral das plantas deste estudo. Ryan e Kochian (1993) relatam que o íon Al^{3+} compete com Ca^{2+} e Mg^{2+} pelos sítios de absorção das proteínas transportadoras inibindo o influxo na célula e o transporte desses nutrientes para parte aérea. Em trabalho conduzido por Fageria e Carvalho (1982), os autores observaram que o Al afetou a absorção de Ca e Mg em plantas de arroz. Vale ressaltar, que o Ca tem um papel importante como constituinte da parede celular dos vegetais (MARSCHNER, 1995), enquanto o Mg é um constituinte da molécula de clorofila, sendo fundamental para o processo de fotossíntese. Além dessas funções importantes, o Ca também exerce papel fundamental no desenvolvimento do sistema radicular do feijoeiro (BEZERRA NETO et al., 2014). Nas plantas, os teores adequados de Ca variam de 4 a 40 g kg^{-1} (FERNANDES, 2006), dependendo da espécie, tecido e órgão vegetativo, assim como do tipo de manejo adotado (MARSCHNER, 2012). Para a cultura do feijoeiro vigna, os teores adequados estão entre 50 e 55 g kg^{-1} (CAVALCANTI et al., 2008), no entanto, neste estudo os teores de Ca ficaram

muito abaixo do nível considerado adequado, o que provavelmente se deve a exposição das plantas as condições de estresse abiótico por Al e H. A menor absorção e redução do transporte de Ca em plantas expostas ao Al induzem a deficiência mineral de Ca na parte aérea (FOY et al., 1978), afetando o desenvolvimento do sistema radicular, a absorção de íons e a permeabilidade das membranas celulares (RENGEL e ZHANG, 2003).

Em relação ao teor de micronutriente na parte aérea, o maior teor de Mn em plantas cultivadas no nível de pH mais ácido, pode explicar a influência do íon H^+ na melhoria dos processos fisiológicos das plantas dessa cultivar, como foi evidenciado pelos dados da fotossíntese líquida em solução nutritiva sob esse nível de pH. O teste de Dunnett reforça essa afirmação ao evidenciar que houve menor teor de Mn na parte aérea plantas do tratamento-5 e tratamento-6, submetidas a presença de Al e níveis de pH menos ácidos. De acordo com Foy (1973), a acidez favorece a absorção e o acúmulo de Mn devido ao aumento da disponibilidade desse elemento em soluções com pH ácido. A literatura destaca que o Mn tem importante participação na estrutura de proteínas fotossintéticas e enzimas (MILALEO et al., 2010), sendo este um constituinte essencial da proteína responsável pela degradação da molécula de água no FSII, fornecendo os elétrons necessários para o processo de fotossíntese (MARSCHNER, 1995), o que poderia explicar o desempenho positivo relacionado a taxa fotossintética dessas plantas.

A redução dos teores de P, K, Ca e Mg nas raízes podem ser atribuídas ao efeito tóxico isolado do Al^{+3} na solução de cultivo. A redução da absorção desses nutrientes com menor influxo nas células afeta o metabolismo e o crescimento das plantas. Contudo, notou-se que os teores desses nutrientes foram menores nas raízes do que nos tecidos da parte aérea, indicando que houve menor precipitação e maior translocação para parte aérea, especialmente de P e Ca. Esse comportamento nutricional das plantas sob condição de estresse por Al em solução com pH ácido, com menor conteúdo de nutrientes e de redução da precipitação nos tecidos de raiz, especialmente em relação ao P, pode estar associado ao maior grau de tolerância e de adaptação da espécie as condições químicas de acidez da solução, denotando ser uma forma de estratégia.

2.4.1.2 *Teor de nutrientes na parte aérea e raízes (BRS Tracuateua)*

A interação de Al e pH teve efeito sobre a nutrição mineral de K, indicando que as plantas cultivadas sob condições de pH mais ácido e ausência de Al apresentaram maior teor

desse nutriente na parte aérea. Esse resultado indica que o pH mais baixo favoreceu a absorção e o transporte de K para a parte aérea, melhorando a qualidade nutricional das plantas, especialmente quando expostas a essa condição de estresse, contudo, sob condições de pH baixo e presença de A (1 mM), o efeito de toxicidade tende a reduzir o teor desse nutriente na parte aérea. O baixo teor de K nas plantas sob condições de pH 4,7 e presença de Al (1 mM) pode explicar o comportamento fisiológico observado anteriormente, onde as plantas expostas a essas condições de estresse apresentaram uma menor taxa de transpiração e de condutância estomática, o que pode ser indicativo de estresse hídrico nas plantas. Shimazaki et al. (2007) mencionam que o íon K^+ é essencial no comportamento das células-guarda nas folhas, especialmente para reduzir perda de água por transpiração. De acordo com a literatura, o potássio atua como um osmorregular dentro da célula, estando envolvido no mecanismo de regulação da abertura e fechamento dos estômatos, além de exercer um importante papel na turgência das células, no transporte de carboidratos e no processo de respiração das plantas (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

O efeito isolado do fator Al promoveu redução nos teores de vários nutrientes na parte aérea, tais como P, Ca, Mg, Fe, Zn, e Mn, indicando que o efeito de toxidez por Al^+ causou maior redução na qualidade nutricional das plantas de feijão caupi do que a toxidez pelo H^+ isoladamente, especialmente nas condições de acidez estudadas. O pH teve efeito apenas sobre o comportamento de nutrição mineral de Mg e Mn, reduzindo a absorção de Mg em pH baixo e aumentando de Mn, o que provavelmente se deve ao aumento da disponibilidade do íon Mn^{2+} na solução com pH mais ácido, o que inibiu a absorção de Mg^{+2} , enquanto o comportamento contrário pode ser obtido pelo aumento do pH da solução promovendo a inibição da absorção de Mn.

Em relação aos teores de nutrientes na raiz, o efeito isolado do Al causou redução nos teores de P, Ca e Fe, enquanto o pH mais baixo inibiu o influxo de Ca, assim como observado em relação ao comportamento do Mg na parte aérea. A redução no teor de Ca pode estar relacionada a maior competição pelos sítios de absorção na superfície das raízes em pH mais ácido. Enquanto, o maior teor de Ca em pH 4,7, provavelmente se deve ao menor efeito de inibição competitiva e a maior disponibilidade de Ca em solução com pH menos ácido, bem como uma menor solubilidade do Al nos níveis mais elevados de pH da solução. Assim como observado para BRS Caldeireiro, essa cultivar demonstrou comportamento de tolerância sob condições de estresse em ambiente ácido, no entanto, parece ser menos tolerante por

apresentar maior precipitação de nutriente na raiz, especialmente o Fe. O teor nos tecidos da raiz foi bem mais elevado do que na parte aérea.

2.4.1.3 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

O teste de Dunnett mostrou que o efeito do estresse pela toxidez por Al^{3+} foi mais negativo do que a toxidez por H^+ sobre a qualidade nutricional das plantas, conforme evidenciou os resultados indicando que as reduções na absorção e transporte de nutrientes para parte aérea foi mais afetada negativamente pelos tratamentos contendo Al 1 mM, especialmente quanto a nutrição de P, Ca, Mg, S e Mn. Em relação ao comportamento dos teores na raiz, os nutrientes Ca e B foram mais negativamente influenciados pelo Al do que o N. O comportamento em ambiente ácido mostrou que os teores de nutrientes na parte aérea e raiz são pouco influenciadas pelo H isoladamente, quando comparado ao comportamento das plantas do controle, à exceção do N que foi mais sensível ao efeito do pH.

2.4.1.4 Parâmetros de crescimento e produção de biomassa

De acordo com os resultados obtidos, as plantas de feijão caupi tiveram crescimento e desenvolvimento baixo, o que provavelmente se deve ao efeito negativo do estresse abiótico pela interação entre os níveis de Al e pH da solução de cultivo sobre os parâmetros estudados. Vários estudos mostram que o Al pode afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas sob condições ácidas (KINRAIDE et al., 1992; DELHAIZE e RYAN, 1995; KOCHIAN, 1995). Os íons catiônicos Al^{3+} e H^+ na solução com pH ácido ($\text{pH} < 5,0$) e baixa força iônica podem ser tóxicos para as plantas (KINRAIDE et al., 1992). Tem sido mencionado que o aumento da concentração de Ca^{2+} e de outros cátions tende a reduzir ou anular os efeitos negativos da acidez (MARSCHNER, 1991), justificando o uso de soluções nutritivas com baixa força iônica em experimentos como o do presente estudo. Contudo, o uso de solução de crescimento contendo baixa condutividade elétrica ou força iônica, poderia também explicar o fato de não ter sido observado efeito significativo sobre as variáveis de crescimento e produção de biomassa no tratamento controle.

2.4.1.5 Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)

A fotossíntese líquida pode ser entendida como o fator responsável pelo aumento do crescimento e da produção vegetal, especialmente quando os valores de A são mais elevados.

Nas plantas de feijão caupi, o melhor desempenho fisiológico quanto a taxa de *A* e *EIC* sob condições de estresse por H^+ dentro do nível de pH mais ácido (3,3) pode estar associado a melhoria do estado nutricional dessa cultivar quando o crescimento foi conduzido nessas condições de elevada concentração de H^+ na solução. Kinraide e Parker (1987) explicam que em solução com maior concentração de H^+ , ou seja, mais ácida, as formas mais tóxicas de outros íons como o Al^{3+} competem com o hidrogênio pelos sítios ligantes na superfície das células de raízes. Esse aumento na concentração de cátions em solução, tende a reduzir o potencial negativo de superfície do sistema radicular, o que conseqüentemente pode reduzir a atividade química de cátions tóxicos sobre essa superfície da raiz (KINRAIDE et al., 1992). A maior fotossíntese líquida em solução com pH mais ácido, poderia, ainda, estar relacionado a maior extrusão de H^+ pelas raízes melhorando a absorção de nutrientes e água, o que é fundamental para o crescimento e expansão celular (YAN et al., 1992), como tem sido evidenciado pelos dados da estado nutricional, indicando que houve aumento do teor de nutrientes na parte aérea das plantas quando essa cultivar foi crescida em pH mais baixo, especialmente para os minerais P e Mn.

A menor taxa de fotossíntese líquida no pH 4,7 é corroborado também por outra variável fisiológica, ou seja, pela redução significativa da concentração de carbono interno (*C_i*) nesse nível de pH da solução. A redução do influxo de CO_2 na câmara subestomática pode estar associado ao fechamento dos estômatos nas folhas, levando a diminuição da quantidade de substrato disponível e redução da atividade da enzima Ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). A menor atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do carbono tem efeitos negativos sobre a produção e o acúmulo de fotoassimilados que são essências para o crescimento e a produtividade das plantas.

Em relação ao desempenho fotoquímico das plantas, é provável que o melhor índice de desempenho total (PI_{total}) do tratamento controle (ausência de Al e pH 5,8) reflita uma melhor taxa de fluxo de energia através da cadeia de transporte de elétrons na etapa fotoquímica da fotossíntese, indicando também uma maior eficiência fotossintética no uso da radiação pelas plantas desse tratamento, quando comparado ao menor desempenho observado no fatorial. A redução do desempenho fotossintético (PI_{total}) observado no tratamento T5 do fatorial reforça a presença de danos fotoinibitórios ao aparato fotoquímico das plantas quando estressadas pela exposição a 1 mM de Al e pH 4,0, aplicados via solução nutritiva. De acordo com a literatura (ADIR et al., 2003; YUSUF et al., 2010), esse parâmetro é bastante sensível ao estresse e o menor desempenho relacionado a esse parâmetro tem sido considerado como

um indicador de danos fotoinibitórios ao aparato fotoquímico das plantas. Oliveira et al. (2018) avaliando a fluorescência da clorofila *a* em resposta ao estresse salino utilizando plantas de feijão caupi, observaram a redução desse índice de performance nas plantas submetidas aos níveis mais elevados de estresse.

A menor eficiência no processo fotossintético revelada por meio dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas das plantas expostas a interação Al e pH na solução nutritiva de cultivo, foram evidenciadas pelas variáveis *A*, *C_i*, EIC e *PI_{total}*. A exposição das plantas ao estresse por metais tóxicos, como o Al em pH ácido, pode afetar os processos fotossintéticos e a taxa de transferência de elétrons (ZHENG, 2010), gerando as espécies reativas de oxigênio (ROS) que, por sua vez, podem causar significativos danos aos centros de reação do FSII (GUIDI et al., 2019).

Quanto a fluorescência da clorofila *a*, esse parâmetro tem sido amplamente utilizada como um indicador de estresse em plantas, especialmente pelo uso da relação *F_v/F_m*. Conforme Krause et al. (2001), valores para razão *F_v/F_m* próximos a 0,80 indica que as folhas estão no seu estado saudável e com ausência de fotoinibição. Em contraste, valores para essa relação abaixo desse índice de referência é um indicativo de que as plantas foram estressadas, sugerindo a presença de dano fotoinibitório ao aparato fotossintético na maioria das plantas, o que levaria a redução no rendimento quântico máximo do fotossistema II (FSII) (BJÖRKMAN e DEMMIG-ADAMS, 1987). Apesar dos resultados obtidos para a variável *PI_{total}* revelarem um menor desempenho fotoquímico para as plantas expostas ao estresse por Al, como no tratamento T5, os valores para a relação *F_v/F_m* desse experimento, ficaram dentro do intervalo considerado adequado para folhas saudáveis, com valores ao redor de 0,80, indicando que essa variável isoladamente não detectou danos que comprometessem seriamente a atividade fotoquímica das plantas, o que também pode ser indicativo de que essa cultivar possui mecanismos de tolerância e de eficiência no reparo do seu aparato fotossintético, especialmente quando submetida a essas condições de estresse abiótico. Outros trabalhos (SOUZA et al., 2011; ANDRADE et al., 2019) com feijão caupi também observaram variação não significativa nessa relação, sugerindo grande resistência dessa espécie ao estresse. Os dados relacionados a esse parâmetro de fluorescência da clorofila *a* tem também sido utilizado para seleção de genótipos tolerantes (AZEVEDO NETO et al., 2011), tais como a tolerância ao estresse por Al (MOUSTAKAS et al., 1995).

2.4.1.6 Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracueteua)

O efeito da interação Al e pH alterou a taxas de transpiração (E) e de condutância estomática (gs) das plantas, reduzindo o influxo de CO_2 para dentro da câmara subestomática do mesófilo foliar pode ser atribuído ao fechamento dos estômatos nas folhas. Esse comportamento fisiológico pode ser usado como mecanismo de proteção para reduzir a perda de água pelas plantas (TAIZ e ZEIGER, 2006). O desdobramento da interação, em relação ao teor de prolina, mostrou que a redução desses parâmetros foi maior nas plantas expostas a presença de Al e pH 4,7 (T4 e T5). O fechamento dos estômatos nas folhas e a redução do influxo de CO_2 tender a afetar negativamente a atividade bioquímica de carboxilação pela enzima Rubisco, diminuindo a produção de fotoassimilados pelo processo de fotossíntese. Conseqüentemente, essa redução em parâmetros como E e gs , e a menor produção de fotoassimilados tem impactos negativos sobre o crescimento e a produtividade das plantas (LARCHER, 2004). Por outro lado, o menor efeito de redução desses parâmetros nas plantas expostas ao pH mais ácido (3,3 e 4,0), provavelmente está associado a um efeito atenuante da maior concentração de H^+ reduzindo a atividade química do Al tóxico sobre as raízes, e melhorando os processos fotossintéticos e a qualidade nutricional das plantas, conforme observado também no comportamento da BRS Caldeirão.

2.4.1.7 Teor de prolina (BRS Caldeirão)

Em geral, o acúmulo de grandes quantidades de aminoácido como a prolina no tecido vegetal ocorre devido a exposição da planta ao estresse abiótico (GIANNAKOULA et al., 2008; SZABADOS e SAVOURÉ, 2010), sendo essa uma estratégia utilizada pelas plantas como mecanismo de proteção para preservar a integridade de proteínas e de membranas celulares, a fim de manter suas funções metabólicas vitais (ABDUL JALEEL et al., 2007). Neste estudo, os resultados da cultivar BRS Caldeirão indicaram menor biossíntese e acúmulo de prolina nos tecidos da parte aérea quando as plantas foram submetidas ao estresse por Al (1 mM). Cruz et al. (2014), também observou menor conteúdo de prolina em tecidos de plantas de feijão caupi cultivados com solução nutritiva contendo nível de alumínio a 1 mM comparado aquelas sem a presença desse metal, corroborando com os resultados do presente estudo. Esses autores relatam que esse comportamento metabólico pode estar associado a menor eficiência na assimilação de amônio (NH_4^+) pela planta quando exposta ao Al, causando assim o seu acúmulo nas folhas, o que provavelmente se deve a redução da atividade das enzimas responsáveis pela incorporação do nitrogênio em componentes

orgânicos, tais como a enzima redutase do nitrato. Esse efeito negativo do Al no metabolismo bioquímico das plantas, resultando em menor conteúdo de prolina na parte aérea das plantas, tem sido reforçado pelos resultados do presente trabalho. A redução na atividade de enzimas decorrente do efeito do negativo do Al sobre a rota de metabolismo do N, promovendo alterações nos processos metabólicos desde a absorção até a redução do nitrato a compostos orgânicos tem sido observado por (JUSTINO et al., 2006). Além disso, esse comportamento também pode ser justificado pelo estado nutricional dessa cultivar, onde se constatou que houve redução no teor de P e S na parte aérea das plantas cultivadas com Al na solução. Esses nutrientes são componentes minerais fundamentais no metabolismo vegetal, especialmente o S, pois sua deficiência pode causar redução na síntese de proteínas (TAIZ e ZEIGER, 2006; VITTI et al., 2006).

A elevada concentração de H^+ (acidez) tem sido reconhecida como uma das principais causas de estresse abiótico, limitando o crescimento e o desenvolvimento adequado das plantas (MANZI e CARTWRIGHT, 1984). No nível de maior acidez da solução (pH 3,3), houve maior acúmulo de prolina, indicando que nessa concentração de H^+ possivelmente ocorreu maior biossíntese desse aminoácido nos tecidos da parte aérea das plantas, como resposta a condição de estresse ao qual foram submetidas. O maior acúmulo de prolina pode ter contribuído para melhorar o desempenho fisiológico das plantas dentro desse nível de pH, sugerindo que o conteúdo desse aminoácido no tecido das plantas, possivelmente, atenuou os efeitos negativos causados pelo estresse por H^+ . O acúmulo de prolina pode ter contribuído por meio da melhoria na eficiência das reações bioquímicas de carboxilação, conforme evidenciado pelos parâmetros fisiológicos dessa cultivar, onde foi constatado que a fotossíntese líquida e a EIC nesse dentro desse nível de pH foi semelhante ao controle.

O menor conteúdo de prolina nas plantas cultivadas em solução com pH 4,0, também pode ser explicado pelos parâmetros fisiológicos. A menor biossíntese e acúmulo de prolina nos tecidos das plantas nessa faixa de pH corrobora com o aumento da concentração de carbono interno (C_i) no mesófilo foliar das plantas, o que pode ser indicativo de que houve um efeito negativo do H^+ sobre o metabolismo bioquímico causando a redução da atividade da enzima Rubisco do ciclo de Calvin-Benson no metabolismo do carbono. Conforme discutido anteriormente, o menor teor de prolina nos tecidos das plantas nesses níveis de pH pode ter efeito negativo sobre o metabolismo do N, reduzindo a síntese de proteínas e enzimas que são importantes para os processos metabólicos.

2.4.1.8 Teor de prolina (BRS Tracuateua)

Essa cultivar teve aumento no conteúdo de prolina nos tecidos das raízes, não sendo observado efeito sobre os tecidos da parte aérea, indicando que os tratamentos tiveram maior efeito de toxicidade sobre o sistema radicular, o que poderia ser explicado pelos parâmetros fotossintéticos avaliados. Notou-se que a exposição ao estresse alterou as taxas de transpiração e condutância estomática das plantas, consequentemente, reduzindo o influxo de CO₂ para dentro da câmara subestomática do mesófilo foliar, o que pode estar associado ao fechamento dos estômatos, que é um mecanismo de proteção contra a perda de água. Conforme já mencionado, a biossíntese e o conteúdo de prolina nos tecidos dessas plantas pode ter sido afetado pela redução da atividade de enzimas da rota de metabolismo do N, conforme constatado pela redução de 52% no teor médio de prolina das plantas do fatorial em relação ao tratamento controle. O acúmulo de prolina na raiz pode ser uma resposta metabólica da planta ao estresse hídrico, pois esse aminoácido tem efeito osmorregulador no processo de ajustamento osmótico, de modo que, o acúmulo reduz o potencial hídrico e melhora o influxo de água na raiz. Conforme destacado na literatura, o estresse abiótico, como o estresse causado por Al em pH ácido, pode causar danos severos aos tecidos do sistema radicular da planta e dificultar os processos de absorção e transporte de água e de nutrientes (KOCHIAN et al., 2004; SADE et al., 2016).

2.5 CONCLUSÕES

1. Alumínio e hidrogênio em solução com pH ácido (entre 3,3 e 4,7) são fitotóxicos para os genótipos BRS Caldeirão e BRS Tracuateua de feijão caupi, sendo responsáveis pela baixa performance de crescimento e produção de biomassa seca.
2. As cultivares BRS Caldeirão e BRS Tracuateua variaram quanto ao grau de tolerância, apresentando mecanismos fisiológicos e bioquímicos diferentes. A primeira cultivar é mais adaptada a condição de elevada acidez e a presença de Al (1 mM), comparado a segunda.
3. O comportamento fisiológico e nutricional apresentado pelos genótipos de feijão caupi apontam que o aumento da concentração de hidrogênio na solução tende à atenuar o efeito negativo de toxicidade do Al, indicando elevado potencial de adaptação ao cultivo sob condições ácidas.

REFERÊNCIAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, n. 2, p. 150-157, Oct. 2007.

ADIR, N.; ZER, H.; SHOCHAT, S.; OHAD, I. Photoinhibition: a historical perspective. **Photosynthesis Research**, v. 76, p. 343-370, Dec. 2003.

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

AKINRINDE, E. A.; IROH, L.; OBIGBESAN, G. O.; HILGER, T.; NEUMANN, G.; ROMHELD, V. Differential expression of aluminium tolerance mechanisms in cowpea genotypes under phosphorus limitation. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 854-859, Apr. 2006.

ANDRADE, J. R.; JÚNIOR, S. O. M.; BARBOSA, J. W. S.; ALENCAR, A. E. V.; JOVINO, R. S.; NASCIMENTO, R. Chlorophyll fluorescence as a tool to select salinity-tolerant cowpea genotypes. **Comunicata Scientiae**, v. 10, n. 2, p. 319-324, Apr./Jun. 2019.

AZEVEDO NETO, A. D.; PEREIRA, P. P. A.; COSTA, D. P.; SANTOS, A. C. C. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 893-897, out./dez. 2011.

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

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

BEZERRA NETO, F.; OLIVEIRA, L.; SANTOS, A.; LIMA, J.; SILVA, Í. Otimização agroeconômica da cenoura fertilizada com diferentes doses de jitrana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45. p. 305-311, abr./jun. 2014.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, p. 489-504, Apr. 1987.

BOJORQUEZ QUINTAL, E.; ESCALANTE, C.; MARTÍNEZ-ESTEVEZ, M. Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. e1767, Oct. 2017.

BOYER, J. S. Plant productivity and environment. **Science**, v. 218, n. 4571, p. 443-448, Oct. 1982.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. *In*: GRUISSEM, W.; BUNCHANNAN, B.; JONES, R. (Eds.). Biochemistry and molecular biology of plants. **American Society of Plant Physiologists**, Rockville, 2000, p. 1158-1203.

CAVALCANTI, F. J. A. (org.). **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: 2ª aproximação**. 3. ed. Recife: IPA, 2008. 212 p.

CHEN, R. F.; ZHANG, F. L.; ZHANG, Q. M.; SUN, Q. B.; DONGA, X. Y.; SHEN, R. F. Aluminium-phosphorus interactions in plants growing on acid soils: does phosphorus always alleviate aluminium toxicity? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 995-1000, Mar. 2012.

CORREA, A. M.; CECCON, G.; CORREA, C. M. A.; DELBEN, D. S. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres**, v. 59, p. 88-94, jan./fev. 2012.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 163, p. 1-14, Nov. 2011.

CRUZ, F. J. R.; ALMEIDA, H. J. A.; SANTOS, D. M. M. Growth, nutritional status and nitrogen metabolism in *Vigna unguiculata* (L.) Walp is affected by aluminum. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 7, p. 1132-1139, Jul. 2014.

CRUZ, F. J. R.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L.; LOPES, M. J. S.; NEVES, H. K. B.; NETO, C. F. O.; SILVA, M. H. L.; SANTOS FILHO, B. G.; LIMA JUNIOR, J. A. Aluminum negative impact on nitrate reductase activity, nitrogen compounds and morphological parameters in sorghum plants. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 641-645, Jun. 2011.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, v. 107, n. 12, p. 315-321, Feb. 1995.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006, 403 p.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable crop production. **Advances in Agronomy**, v. 99, p. 345-431, Set. 2008.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. The effects of Science aluminum on growth and uptake of Al and P by rice. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, p. 677-682, Apr. 1989.

FAGERIA, N. K.; CARVALHO, J. R. P. Influence of aluminum in nutrient solutions on chemical composition in upland rice cultivars. **Plant and Soil**, v. 69, n. 1, p. 31-44, Feb. 1982.

FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2006, 432 p.

FOY, C. D. Manganese and plants. *In*: FOY, C. D. **Manganese**. Washington: National Academy of Sciences, 1973. p. 51-76.

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

FOY, C. D. Soil chemical factors limiting plant root growth. **Advances in Soil Science**, v. 19, p. 97-148, Jan. 1992.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, Jun. 1978.

FOY, C. D.; FLEMING, A. L. Aluminum tolerance of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. **Journal of Plant Nutrition**, v. 5, n. 11, p. 1313-1333, May 1982.

FREIRE FILHO, F. R. (Ed.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011, 84 p.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 4, p. 385-396, Mar. 2008.

GUIDI, L.; LO PICCOLO, E.; LANDI, M. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: Does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 174 p., Feb. 2019.

HARIDASAN, M. Alumínio é um elemento tóxico para as plantas nativas do Cerrado? *In*: PRADO, C. H. B. A; CASALI, C. A. (Orgs.). **Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral**. Barueri: Manole, 2008, p. 1-10.

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

HORST, W. J.; WANG, Y.; ETICHA, D. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of Botany**, v. 106, n. 1, p. 185-197, Jul. 2010.

JUSTINO, G. C.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; OLIVEIRA, J. A. Absorção e redução de nitrato em duas cultivares de arroz na presença de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 8, p. 1285-1290, ago. 2006.

KINRAIDE, T. B. Identity of the rhizotoxic aluminum species. **Plant Soil**, v. 134, p. 167-178, Jul. 1991.

KINRAIDE, T. B.; PARKER, D. R. Cation amelioration of aluminium toxicity in wheat. **Plant Physiology**, v. 83, p. 546-551, Mar. 1987.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interactive effects of Al^{3+} , H^+ and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. **Plant Physiology**, v. 99, p. 1461-1468, Aug. 1992.

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

KOCHIAN L. V.; HOEKENGA O. A.; PIÑEROS M. A. How do crop plant tolerate acid soils. Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 459-493, Jun. 2004.

KRAUSE, S. A.; MARIE, L. L.; VASS, S.; SCHOENFELDER, S.; HARRISON, S.; HECK, M. M. S. Loss of cell cycle checkpoint control in *Drosophila* Rfc4 mutants. **Molecular and Cellular Biology**, v. 21, n. 15, p. 5156-5168, Aug. 2001.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004, 531 p.

LEITE, M. L.; VIRGENS FILHO, J. S.; RODRIGUES, J. D. Variação de prolina em folhas de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetido a diferentes déficits hídricos. **Revista Biotemas**, v.12, n.1 p. 21-33, dez. 2000.

LÓPEZ-BUCIO, J.; MARTÍNEZ, O.; GUEVARA-GARCIA, A.; HERRERA-ESTRELLA, L. Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants that overproduce citrate. **Nature biotechnology**, v. 18, p. 450-453, 2000.

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

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

MANZI, J. M.; CARTWRIGHT, P. M. The effects of pH and aluminium toxicity on the growth and symbiotic development of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and Soil**, v. 80, p. 423-430, Oct. 1984.

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. **Plant and Soil**, v. 134, n. 1, p. 1-20, Jul. 1991.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1995, 889 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Elsevier, 2012, 643 p.

MILALEO, R.; REYES-DIAZ, M.; IVANOV, A. G.; MORA, M. L.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance

mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 470-481, Mar. 2010.

MITTLER, R. Abiotic Stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15-19, Jan. 2006.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K. Soil chemical attributes of Amazonas State, Brazil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 40, n. 17-18, p. 2912-2925, Sep. 2009.

MOUSTAKAS, M.; OUZOUNIDOU, G.; LANNOYER, R. Aluminum effects on photosynthesis and elemental uptake in an aluminum-tolerant and non-tolerant wheat cultivar. **Journal of Plant Nutrition**, v. 18, p. 669-683, Apr. 1995.

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

OLIVEIRA, W.; SOUZA, E.; SANTOS, H.; SILVA, Ê.; DUARTE, H.; MELO, D. Fluorescência da clorofila como indicador de estresse salino em feijão caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 12, p. 2592-2603, mai./jun. 2018.

RAZA, A.; RAZZAQ, A.; MEHMOOD, S. S.; ZOU, X.; ZHANG, X.; LV, Y.; XU, J. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants (Basel)**, v. 8, n. 2, p. 34, Jan. 2019.

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

RENGEL, Z.; ZHANG, W. Role of dynamics of intracellular calcium in aluminium-toxicity syndrome. **New Phytologist**, v. 159, n. 2, p. 295-314, Jun. 2003.

ROY, A. K.; SHARMA, A.; GEETA TALUKDER, G. Some aspects of aluminum toxicity in plants. **The Botanical Review**, v. 54, p. 145-160, Apr. 1988.

RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interaction between aluminum toxicity and calcium uptake at the root apex in near-isogenic lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) differing in aluminum tolerance. **Plant Physiology**, v. 102, n. 3, p. 975-982, Jul. 1993.

SADE, H.; MERIGA, B.; SURAPU, V.; GADI, J.; SUNITA, M. S. L.; SURAVAJHALA, P.; KAVI KISHOR, P. B. Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. **Biometals**, v. 29, n. 2, p. 187-210, Apr. 2016.

SAMAC, D. A.; TESFAYE, M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils—A review. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 75, p. 189-207, Dec. 2003

SANTOS, J. A. S.; SOARES, C. M. G.; CORRÊA, A. M.; TEODORO, P. E.; RIBEIRO, L. P.; ABREU, H. K. A. Agronomic performance and genetic dissimilarity among cowpea

(*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) genotypes. **Global Advanced Research Journal of Agricultural Science**, v. 3, n. 8, p. 205-211, Aug. 2014.

SANTOS JÚNIOR, U. M.; GONÇALVES, J. F. C.; FELDPAUSCH, T. R. Growth, leaf nutrient concentration and photosynthetic nutrient use efficiency in tropical tree species planted in degraded areas in central Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 226, n. 1-3, p. 299-309, May 2006.

SHAPIRO, S.; WILK, M. An analysis of variance test for normality (Complete samples). **Biometrika**, vol. 52, n. 3/4, p. 591-611, Dec. 1965.

SHIMAZAKI, K. I.; MICHIO DOI, S. M.; ASSMANN, T. K. Light regulation of stomatal movement. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, n. 1, p. 219-247, Jul. 2007.

SOUZA, R. P.; MACHADO, E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, R. V. Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 6, p. 586-592, jun. 2011.

STRASSER, R. J., SRIVASTAVA, A.; GOVINDJEE, C. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v. 61, n. 1, p. 32-42, Jan. 1995.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; QIANG, S.; GOLTSEV, V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820 nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics**, v. 1797, n. 6-7, p. 1313-1326, Jun./Jul. 2010.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006, 722 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, 819 p.

THAKUR, P.; KUMAR, S.; MALIK, J.; BERGER, J.; NAYYAR, H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 429-443, Jan. 2010.

VITTI, G. C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, magnésio e enxofre. In: MANLIO, S. F. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p. 299-325

VORASOOT, N.; SONGSRI, P.; AKKASAENG, C.; JOGLOY, S.; PATANOTHAIS, A. Effect of water stress on yield and agronomic characters of peanut. **Journal of Science Technology**, v. 25, n. 3, p. 283-288, Apr. 2003.

YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; MATSUMOTO, H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminium, but is not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. **Plant Physiology**, v. 125, n. 1, p. 199-208, Jan. 2001.

YAN, F.; SCHUBERT, S.; MENGEL, K. Effect of low root medium pH on net proton release, root respiration, and root growth of corn (*Zea mays* L.) and broad bean (*Vicia faba* L.). **Plant Physiology**, v. 99, n. 2, p. 415-421, Jun. 1992.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE, C.; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1797, n. 8, p. 1428-1438, Aug. 2010.

ZHENG, S. J. Crop production on acidic soils: overcoming aluminium toxicity and phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, v. 106, n. 1, p. 183-184, Jul. 2010.

3 CAPÍTULO II: RESPOSTA DO FEIJÃO CAUPI À INTERAÇÃO MANGANÊS E HIDROGÊNIO

RESUMO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma cultura agrícola que possui alto valor nutritivo e melhora a rentabilidade dos pequenos agricultores no Brasil. O objetivo deste trabalho foi para investigar o efeito da interação manganês (Mn) e hidrogênio (H) sobre a fotossíntese, crescimento, estado nutricional e o acúmulo de prolina em dois genótipos feijão caupi (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua). Foram conduzidos dois estudos em casa de vegetação, utilizando o delineamento inteiramente casual, com três repetições e uma planta por unidade experimental, totalizando 21 plantas por estudo. Utilizou-se areia lavada como substrato e solução nutritiva como fonte de nutrientes para o crescimento das plantas. Em cada estudo, plantas jovens (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua) foram expostas a uma combinação fatorial de duas doses de Mn (0,0 e 72 μM) e três níveis de pH (3,7; 5,0 e 6,3), mais um tratamento de controle. O tratamento adicional foi composto de uma solução nutritiva com 1/4 da força iônica da solução padrão de Hoagland e Arnon, com pH 5,8 e sem a presença de Al. Os resultados mostraram que na ausência de Mn as plantas de BRS Caldeirão apresentaram sintomas de deficiência e redução no crescimento e produção de MSPA e MST, e na BRS Tracuateua houve redução da MSF. A interação Mn x pH aumentou o teor de Mn na folha de BRS Caldeirão, especialmente em pH mais baixo (3,7). A ausência de Mn aumentou o teor de prolina na folha de BRS Caldeirão, indicando estresse pela deficiência desse nutriente. O efeito isolado do Mn (72 μM) na solução nutritiva reduziu o teor foliar de N e P, e aumentou de Fe de BRS Caldeirão, enquanto na BRS Tracuateua, reduziu o teor de K, Mg e Mn. O efeito isolado do pH reduziu a absorção de Mn e Zn na folha de BRS Tracuateua, e não teve efeito sobre a BRS Caldeirão. A BRS Caldeirão é mais tolerante ao excesso de Mn na solução, enquanto a BRS Tracuateua é mais sensível.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Nutrição mineral de plantas. Prolina. *Vigna unguiculata*.

CHAPTER II: RESPONSE OF COWPEA PLANTS TO MANGANESE AND HIDROGEN INTERACTION

ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) is a food crop with high nutritive value which enhance profitability of smallholder farmers in Brazil. Two greenhouse studies were carried out using a completely randomized design, with three replications and one plant per experimental unit, totaling 21 plants per study. It was used washed sand as substrate, and nutrient solution as a source of nutrients for plant growth. In each study, young plants (BRS Caldeirão and BRS Tracuateua) were exposed to a factorial combination of two levels of Mn (0.0 and 72 μM) and three levels of pH (3.7; 5.0 and 6.3), plus a control treatment. This additional treatment was composed of $\frac{1}{4}$ Hogland's solution without Mn and pH 5.8. The results showed that solution without Mn plants for BRS Caldeirão presented deficiency symptoms, and increase in parametrs growth like shoot dry mass and total dry mass, and for BRS Tracuateua there was reduction in leaf dry mass. The Mn and pH interaction increase Mn content in foliar tissue for BRS Caldeirão, mainly at low pH (3.7). Without Mn in solution the proline content increased in foliar tissue for BRS Caldeirão, indicating estresse effect by nutrient deficiency. The isolated effect of Mn (72 μM) in solution reduced foliar content of N and P, and increased of Fe for BRS Caldeirão, while for BRS Tracuateua, it reduced leaf content of K, Mg e Mn. The pH effect reduced absorption of Mn and Zn for BRS Tracuateua and had no effect on BRS Caldeirão. In summary, these two cultivars were more eficients in the absorption of nutrients at condicions of low pH, indicating high tolerance to the stress by excess of Mn in nutrient solution, being more evident the toxic simptoms for BRS Tracuateua. The BRS Caldeirão is tolerant to the excess of Mn in solution, while BRS Tracuateu is less tolerant.

Keywords: Abiotic stress. Plant mineral nutrition. Proline. *Vigna unguiculata*.

3.1 INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é um alimento de alto valor nutritivo muito consumido nas regiões norte e nordeste do Brasil, constituindo-se numa importante cultura de subsistência para pequenos produtores rurais (FREIRE FILHO et al., 2005; FREIRE FILHO, 2011). Apesar da sua grande relevância como fonte de alimento e renda (FROTA et al., 2008; CARVALHO et al., 2011; SANTOS et al., 2014), esta cultura é ainda produzida principalmente com o uso de baixo nível tecnológico, o que tem sido um fator limitante ao aumento da produtividade nessas regiões. A condição química de acidez desses solos desempenha um papel importante limitando o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

Em regiões de solos tropicais ácidos, como na Amazônia brasileira, é conhecido que existe forte limitação ao cultivo de plantas agrícolas devido à baixa fertilidade natural desses solos. O estresse abiótico causado pela limitação nutricional sobre as espécies agrícolas se deve principalmente a condição química desses solos, sobretudo o nível de acidez (pH). A acidez pode influenciar as concentrações de metais como o manganês (Mn), levando a toxidez das plantas (FOY et al., 1978). De acordo com Carneiro et al. (2001), a toxicidade de metais como alumínio e/ou de manganês estão entre os fatores abióticos de estresse que mais limitam o crescimento e o desenvolvimento das plantas em solos com pH ácido.

Após o Al, o estresse por Mn em concentrações tóxicas na solução é o mais afeta as propriedades fisiológicas e bioquímicas das plantas (RAYEN et al., 2010). Ao contrário do Al, o Mn se destaca por ser um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento bem sucedido das plantas (MARSCHNER, 1995), especialmente para o cultivo de espécies leguminosas (HORST e MARSCHNER, 1978). Para a cultura do feijão caupi, o Mn constitui o terceiro micronutriente mais extraído (FONSECA et al., 2010). De acordo com Fageria (2001), o Mn tem importante função no metabolismo vegetal, atuando na ativação de enzimas, síntese de clorofila e na fotossíntese. Este micronutriente é um componente essencial da proteína D1 responsável pela degradação da molécula de água, fornecendo os elétrons necessários para o desempenho da atividade fotoquímica no fotossistema II (MARSCHNER, 1995; GOUSSIAS et al., 2002).

Os níveis tóxicos de Mn em condições ácidas, não afetam diretamente as raízes dos vegetais como no caso do Al, sendo mais comum os sintomas de toxidez aparecerem na parte

aérea (SORATTO et al., 2005), limitando o crescimento das plantas (PAVAN e BINGHAM, 1981). As respostas de tolerância e os sintomas de toxidez podem variar consideravelmente entre as plantas (SORATTO et al., 2005), o que está relacionado com a grande variedade genética que existe entre as cultivares desta espécie (HOST et al., 1999). Acredita-se que a tolerância ao excesso de Mn seja controlada principalmente por fatores genéticos (FOY et al., 1978), e que o principal mecanismo de tolerância seja a capacidade de acumular e suportar grandes quantidades de Mn no tecido foliar (KOHNO e FOY, 1983). Apesar dos trabalhos desenvolvidos sobre a toxidez de Mn na cultura do feijão caupi (HORST, 1983; SORATTO et al., 2005; FÜHRS et al., 2009), ainda são escassas as informações relacionadas ao efeito da interação do Mn com outros cátions como o hidrogênio (H). Acredita-se que o hidrogênio tem efeito tóxico no cultivo de plantas e que este também pode atenuar a toxidez de outros cátions em soluções com pH ácido (KINRAIDE, 1991; KINRAIDE et al., 1992). Nesse sentido, os estudos com genótipos de feijão caupi são importantes para acessar informações sobre as respostas fisiológicas de tolerância e de adaptação ao estresse (AKINRINDE et al., 2006).

A calagem tem sido a alternativa mais utilizada pelos produtores a fim de tentar sanar o problema da acidez do solo. Apesar do uso do calcário agrícola ser recomendado para o cultivo de plantas em solos ácidos, a eficiência desta prática muitas vezes é baixa devido à pouca mobilidade do calcário no solo, corrigindo na maioria das vezes apenas as camadas superficiais (0-10 cm) (CASSIOLATO et al., 2000), limitando o crescimento das raízes para as camadas mais profundas do solo. Adicionalmente, essa prática pode onerar os custos de produção com insumos agrícolas, inviabilizando economicamente a produção, sobretudo na região amazônica. Uma alternativa para melhorar a eficiência na produção seria a seleção e o uso de genótipos tolerantes (FOY, 1992), que tem grande potencial para reduzir os efeitos negativos do estresse abiótico sobre a produtividade das plantas (MORONI et al., 2003).

Atualmente várias ferramentas estão disponíveis para acessar as respostas fisiológicas das plantas ao estresse por metais tóxicos, destacando-se a avaliação da fluorescência da clorofila *a* (STRASSER et al., 2004) em conjunto com as análises de trocas gasosas, com vistas a obter informações sobre a eficiência do aparato fotossintético das plantas (YUSUF et al., 2010). O acúmulo de prolina no tecido vegetal também pode ser usado como um indicador metabólico de estresse (REJEB et al., 2014). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi investigar o efeito da interação de manganês (Mn) com hidrogênio (H) sobre o crescimento, fotossíntese, estado nutricional e o acúmulo de prolina de duas cultivares de feijão caupi.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Espécie e condições de crescimento

O feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], também conhecido como feijão-de-praia, feijão-fradinho, feijão-de-corda ou feijão-catador, é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae. Esta espécie é uma planta anual capaz de se desenvolver em solos de baixa fertilidade (FREIRE FILHO, 2011; CORREA et al., 2012). As plantas de feijão caupi, foram cultivadas, durante o período de novembro a dezembro de 2018, em casa de vegetação com luz natural e condições ambientais com $612,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fóton fotossintético, fotoperíodo de 12:00h / 12:00h (dia/noite), temperatura média de 35 °C e umidade relativa de 70%, localizada no setor de fitotecnia da Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.

3.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

Foram conduzidos dois experimentos, concomitantemente, utilizando-se como planta teste duas cultivares de feijão caupi (BRS Caldeirão e BRS Tracuateua). Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial ($2 \times 3 + 1$), sendo dois níveis de Mn (0,0 e 72 μM) e três níveis de pH (3,7; 5,0 e 6,3), mais um tratamento controle (solução nutritiva com força iônica de aproximadamente 1/2 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950), com pH 5,8 e sem a presença de Mn), com três repetições e uma planta por unidade experimental, totalizando 21 plantas, por experimento.

3.2.3 Procedimentos específicos

3.2.3.1 Preparo do substrato e dos recipientes de cultivo

Utilizou-se como substrato areia grossa de rio, passada em peneiras com malha entre 2 mm e 0,5 mm de diâmetro. Os procedimentos utilizados na lavagem da areia estão descritos no item 2.2.3.1 do Capítulo I.

3.2.3.2 Obtenção das plantas

Sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. cv. BRS Caldeirão e BRS Tracuateua) foram tratadas conforme metodologia descrita no item 2.2.3.2. Cerca de 42 plântulas com 15

dias após a semeadura (DAS), vigorosas e uniformes, foram transplantadas para os recipientes de cultivo.

3.2.3.3 *Pré-cultivo*

Plântulas com 15 DAS foram pré-cultivadas por duas semanas, recebendo uma adubação básica completa na forma de solução nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950) diluída a 1/10 na primeira semana e 1/4 na segunda semana.

3.2.3.4 *Cultivo - aplicação dos tratamentos e adubação básica de cultivo*

Após a fase de pré-cultivo as plantas receberam os tratamentos, utilizando como fonte o sulfato de manganês ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), e como fonte de H^+ o ácido clorídrico (HCl - $0,5 \text{ mol L}^{-1}$). O pH da solução de trabalho foi ajustado de acordo com o desenho experimental, antes e após adição do Mn, com o uso de NaOH ou HCl , ambos com $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Nessa fase foi fornecida uma adubação básica, na forma de solução nutritiva com força iônica equivalente a 1/2 da solução padrão de Hoagland e Arnon (1950). A composição da solução nutritiva foi formulada com as seguintes fontes: $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, K_2SO_4 , KCl , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Fe-EDTA , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Tanto na fase de pré-cultivo e cultivo, foi fornecido 80% do N na forma de nitrato e o restante na forma de amônio. O pH da solução da solução de pré-cultivo foi mantido em 5,8 enquanto que na fase de cultivo foi ajustado antes e após a adição do Mn, conforme a necessidade de cada tratamento (3,7, 5,0 e 6,3) ou 5,8 (tratamento controle), utilizando NaOH ou HCl , ambos $0,2$, $0,5$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

3.2.3.5 *Preparo das soluções*

Tanto as soluções nutritivas de pré-cultivo quanto aquelas de cultivo e tratamentos, foram feitas a partir de soluções-estoque preparadas com reagentes puro para análise (p.a.), conforme descrito no item 2.2.3.5 do Capítulo I.

3.2.3.6 *Fornecimento e troca de soluções de nutrientes*

Irrigação com solução foi realizada diariamente. O volume de solução nutritiva, foi calculado para atingir no máximo 65% da capacidade de saturação da areia presente no vaso, visando evitar estresse por anoxia. A renovação da solução nutritiva, visando evitar a

salinização do substrato, foi realizada a cada sete dias, iniciando com monitoramento da condutividade elétrica (C.E.) da solução nutritiva, limpeza do substrato através do fornecimento de água deionizada, até que a água drenada dos vasos apresentem C. E. $< 3 \mu\text{S}$, em seguida era feita renovação da solução de cultivo e reaplicação dos tratamentos.

3.2.4 Avaliação do experimento

Foi feito após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos, por meio de medições de alterações nos parâmetros fotossintéticos, parâmetros de crescimento e desenvolvimento, produção de matéria seca, teor de prolina e estado nutricional das plantas, conforme procedimentos metodológicos descritos a seguir.

3.2.4.1 Avaliação dos parâmetros fotossintéticos

A fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) e a concentração de CO_2 interno (C_i) foram obtidas entre 09:00 e 12:00h, utilizando a terceira folha (a partir do ápice do ramo) totalmente expandida, em ramos localizados na região intermediária de cada planta, utilizando analisador de gás infravermelho (IRGA - LICOR 6800) portátil, conforme metodologia descrita por Santos Júnior et al. (2006). O aparelho foi ajustado com uma densidade de fluxo de fótons saturante (PPFD) de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fluxo de CO_2 de $400 \mu\text{mol s}^{-1}$, temperatura de 27°C e umidade a 50%. A partir dos dados da A e C_i foi calculado a eficiência interna de carboxilação (EIC).

3.2.4.2 Fluorescência da clorofila a

Os parâmetros de fluorescência da clorofila a foram medidos conforme descrito no item 2.2.4.2 do Capítulo I.

3.2.4.3 Parâmetros de crescimento

Os parâmetros avaliados foram crescimento da parte aérea (CPA), O diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), e relação raiz/parte aérea (RRPA), como descrito no item 2.2.4.3 do Capítulo I.

3.2.4.4 Teor de prolina

Foi determinado na parte aérea e nas raízes, conforme Bates et al. (1973), com adaptação de Leite et al. (2000), conforme descrito no item 2.2.4.4 do Capítulo I. A concentração de prolina foi estimada com o auxílio de reta padrão previamente estabelecida, sendo os resultados obtidos expressos em micromol de prolina por grama de matéria seca ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$).

3.2.4.5 Avaliação do estado nutricional

A MSF foi moída em moinho tipo Willey e analisada quimicamente quanto aos elementos nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), enxofre (S), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), boro (B) e cobre (Cu), conforme Malavolta et al. (1997).

3.2.5 Análise dos dados

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade pelo método de Shapiro-Wilk (1965) ($P > 0,05$) e posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando o F foi significativo ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Quando se constatou diferença significativa na interação fatorial vs tratamento adicional, a média de cada tratamento foi comparada com a média do controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Interação Mn x pH

3.3.1.1 Teor de nutrientes na folha (BRS Caldeirão)

O estado nutricional dessa espécie foi significativamente influenciado pelos níveis de Mn e pH da solução nutritiva, indicando que houve efeito de interação sobre o teor de Mn na folha das plantas estudadas. Observa-se pelo desdobramento fator Mn dentro do fator pH, que após o período de exposição das plantas aos tratamentos, o teor de Mn na folha foi significativamente reduzido em plantas submetidas a solução contendo ausência de Mn, em todos os três níveis de pH testados, quando comparado aquelas expostas a solução contendo

nível 72 μM de Mn (Figura 16A). Além disso, constatou-se pelo desdobramento do fator pH dentro do fator Mn, que na ausência de Mn, o teor foliar de Mn não teve diferença significativa entre os três níveis de pH da solução. Em contraste, observa-se que na solução com nível de Mn (72 μM), o teor de Mn na folha das plantas expostas ao pH mais ácido (3,7) foi significativamente superior aos níveis de pH 5,0 e 6,3, sendo que estes não diferiram entre si (Figura 16B).

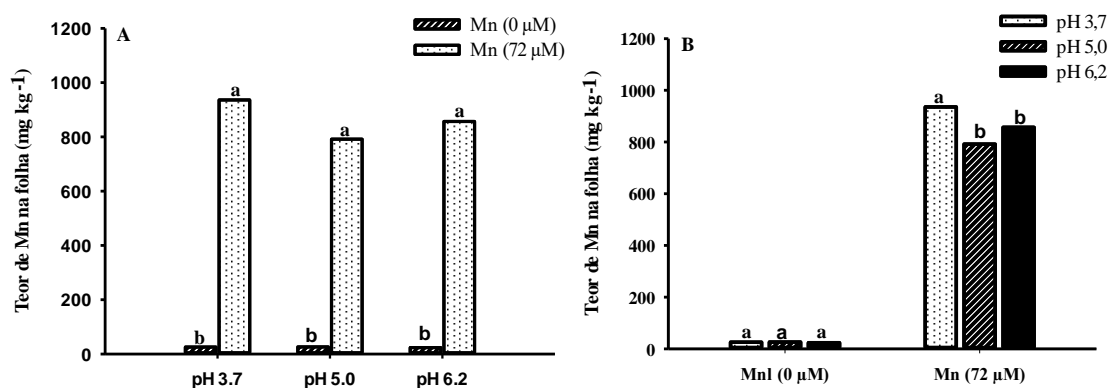


Figura 16. Teor de manganês (Mn) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao efeito isolado do fator Mn sobre o teor foliar de nutrientes, observa-se que houve comportamento semelhante para o teor foliar de N e P, sendo que na solução contendo nível de 72 μM de Mn, o teor desses nutrientes minerais foi significativamente reduzido em relação as plantas tratadas com solução nutritiva sem o Mn (Figuras 17A e 17B). Comportamento diferente foi observado em relação ao teor de Fe na folha das plantas, mostrando que o teor foliar desse micronutriente foi significativamente maior nas plantas tratadas com nível de 72 μM de Mn, quando comparado aquelas submetidas a ausência de Mn (Figura 17C).

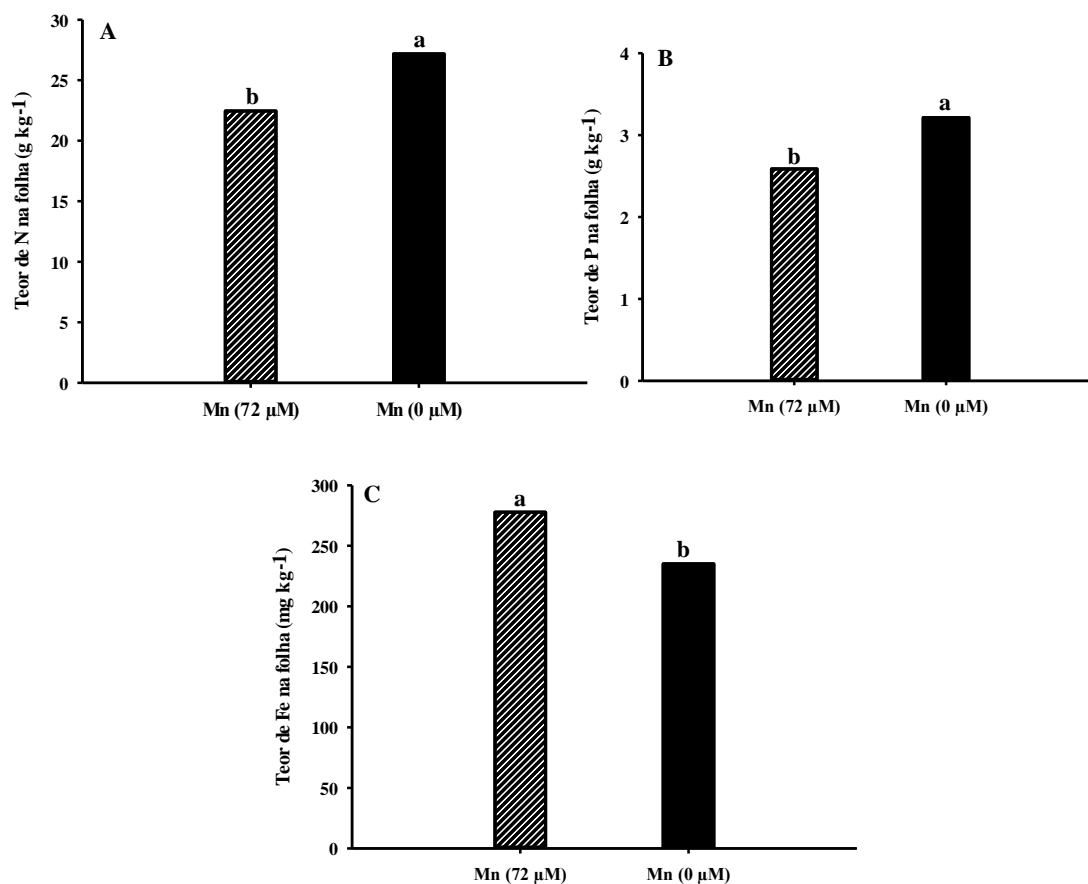


Figura 17. Teor de nitrogênio (N), fósforo (P) e ferro (Fe) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de Mn, após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.1.2 *Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos*

Houve efeito significativo da interação entre fatorial e tratamento adicional sobre os parâmetros nutricionais relacionados aos teores de Mn e Zn na folha dessa cultivar de feijão caupi. O desdobramento da interação comparando todos os tratamentos (T1 a T6) com o tratamento adicional (C) pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade é apresentado na Figura 20. Em relação ao teor foliar de Mn, observa-se que nos tratamentos com ausência de Mn (T1, T2 e T3) as plantas tiveram teores significativamente iguais ao do controle, entretanto, nos tratamentos (T4, T5 e T6) contendo Mn (72 μM) os teores desse nutriente foram significativamente maiores (Figura 18A). Quanto ao teor de Zn na folha, nota-se que apenas no tratamento sem Mn e pH mais ácido (3,7), as plantas tiveram teor significativamente superior ao controle, enquanto nos demais tratamentos não houve diferença significativa (Figura 18B).

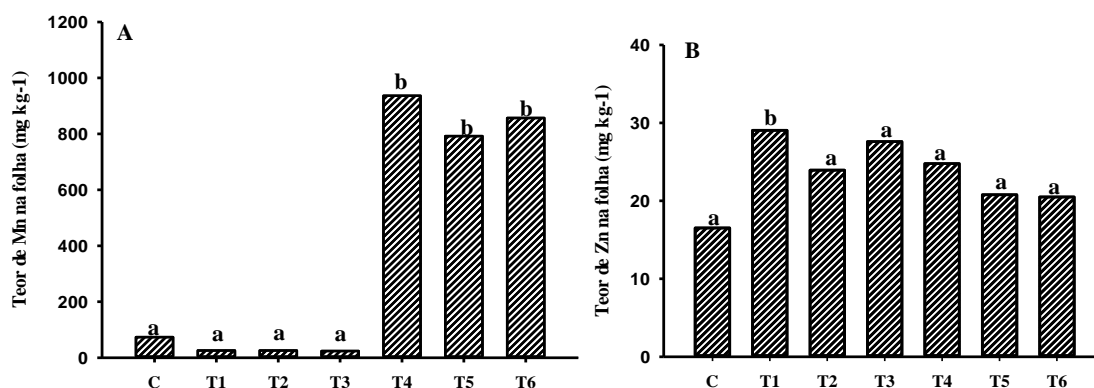


Figura 18. Contrastes médios dos teores de manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função do efeito das tratamentos: T1-(0:3,7); T2-(0: 5,0); T3-(0:6,3); T4-(72:3,7); T5-(72:5,0); T6-(72:6,3) - níveis de Mn e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

3.3.1.3 Teor de nutrientes na folha (BRS Tracueteua)

Os teores foliares de K, Mg e Mn das plantas dessa cultivar foram influenciados significativamente pelo efeito isolado do fator Mn, enquanto os teores de Mg e Zn tiveram efeito isolado do fator pH da solução nutritiva. Em relação ao efeito isolado do fator Mn, observa-se que as plantas expostas a solução nutritiva contendo ausência de Mn tiveram redução significativa nos teores foliares de K, Mg e Mn, comparativamente ao nível de 72 μ M de Mn (Figura 19A-19C). Essa redução foi de proximamente 17,60, 21,85 e 95,96%, respectivamente. Quanto ao efeito isolado do fator pH sobre a nutrição mineral de Mg e Zn, nota-se um padrão de comportamento nutricional semelhante, demonstrando que nas plantas submetidas as soluções com nível de pH 3,7 houve redução significativa nos teores foliares de Mg e Zn quando comparado ao pH 6,3, enquanto que no nível de pH 5,0 os teores não diferiram significativamente (Figura 19D e 19E). A redução dos teores de Mg e Zn foi da ordem de 30,56 e 25,54%, respectivamente.

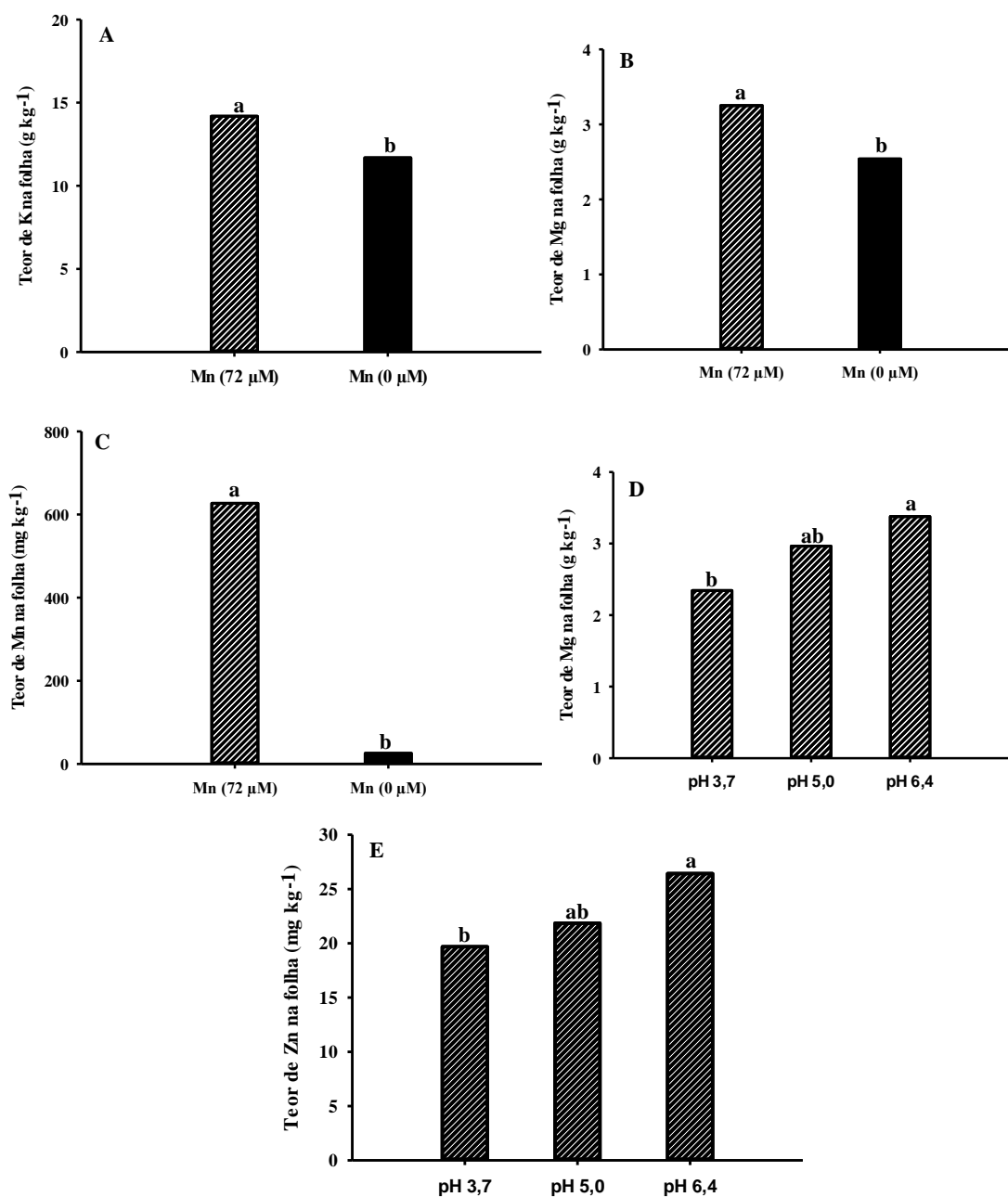


Figura 19. Teores de potássio (K), magnésio (Mg), manganês (Mn) e Zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função da concentração de manganês (Mn) (A, B e C), e de níveis de pH (D e E), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.1.4 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

O teste F revelou que houve efeito significativo da interação entre fatorial e tratamento adicional sobre os teores de Mn e Zn na folha das plantas dessa cultivar de feijão caupi. O desdobramento da interação comparando todos os tratamentos (T1 a T6) com o tratamento

adicional (C) pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade é apresentado na Figura 25. Em relação ao teor de Mn, observa-se que nos tratamentos (T1, T2 e T3) utilizando solução contendo ausência de Mn os teores desse nutriente foram estatisticamente iguais ao controle, enquanto nos tratamentos T4, T5 e T6 foram significativamente superiores (Figura 20A). Quanto ao teor de Zn na folha, nota-se que as plantas do tratamento “controle” tiveram teor significativamente reduzido quando comparado aos tratamentos T2, T3 e T6, enquanto que os demais tratamentos não diferiram (Figura 20B).

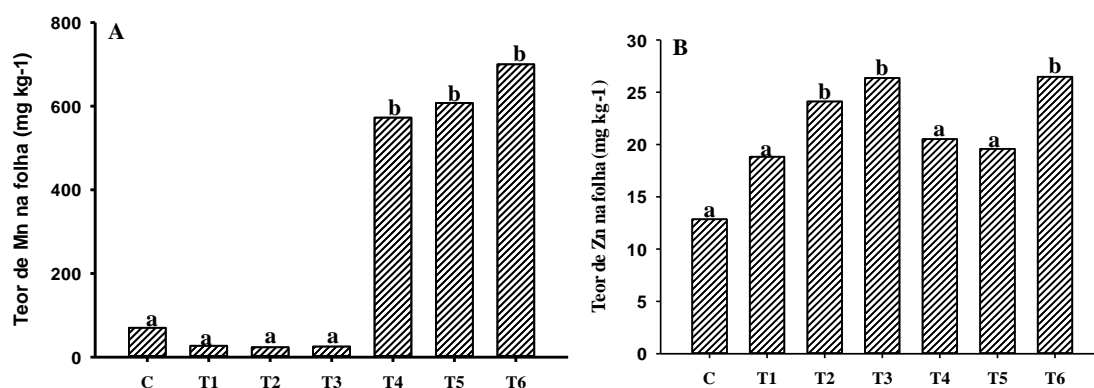


Figura 20. Contrastes médios dos teores de manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha do feijão caupi cv. BRS Tracueteua, em função do efeito das tratamentos: T1-(0:3,7); T2-(0: 5,0); T3-(0:6,3); T4-(72:3,7); T5-(72:5,0); T6-(72:6,3) - níveis de Mn e pH, respectivamente e tratamento controle (C), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

3.3.1.5 Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)

Houve efeito significativo da interação Mn e pH sobre a relação F_v/F_m , e efeito isolado do fator Mn sobre as variáveis PI_{abs} e PI_{total} , além de efeito isolado do fator pH sobre o índice PI_{total} das plantas de feijão caupi. Em relação ao parâmetro fotossintético de eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m), nota-se pelo desdobramento do fator Mn dentro do fator pH, que plantas tratadas com ausência de Mn tiveram redução significativa desse índice comparativamente aquelas submetidas ao nível de 72 μM de Mn, em todos os três níveis de pH testados (Figura 21A). Adicionalmente, observa-se pelo ao desdobramento do fator pH dentro do fator Mn, que plantas submetidas a solução com nível de 72 μM de Mn não tiveram diferença significativa na relação F_v/F_m nos níveis de pH estudados, contudo, em solução contendo ausência de Mn as plantas expostas ao pH 3,7 tiveram o valor dessa relação significativamente superior aquelas sujeitas aos níveis de pH 5,0 e 6,3, sendo que estes últimos dois não difeririam entre si (Figura 21B).

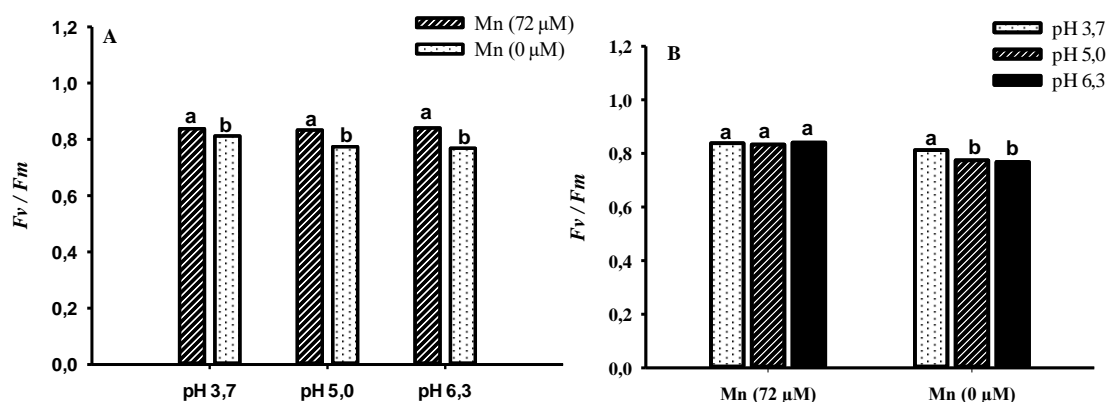


Figura 21. Eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Adicionalmente, na solução contendo ausência de Mn, onde constatou-se os menores índices para relação F_v/F_m , as plantas expostas aos níveis de pH 5,0 e 6,3 tiveram valores médios para esse parâmetro de aproximadamente 0,77 e 0,76, respectivamente. No nível mais baixo de pH (3,7), esse índice foi mais elevado, atingindo cerca de 0,81. Nas plantas expostas ao excesso de Mn na solução nutritiva, esse parâmetro teve valor médio de aproximadamente 0,83.

Quanto ao índice de performance fotoquímico das plantas (PI_{abs}), constatou-se que o valor desse parâmetro foi significativamente mais elevado nas plantas expostas ao nível de 72 µM de Mn, quando comparado à ausência de Mn (Figura 22C). Observou-se, ainda, que o índice de desempenho fotoquímico total (PI_{total}) teve comportamento oposto, apresentando um valor superior nas plantas submetidas a solução contendo ausência de Mn (Figura 22A). Em relação ao efeito isolado do fator pH sobre esse índice de desempenho, nota-se que as plantas tratadas com solução a pH 6,3 tiveram o PI_{total} significativa superiores aquelas submetidas ao nível de pH mais ácido (3,7) (Figura 22B).

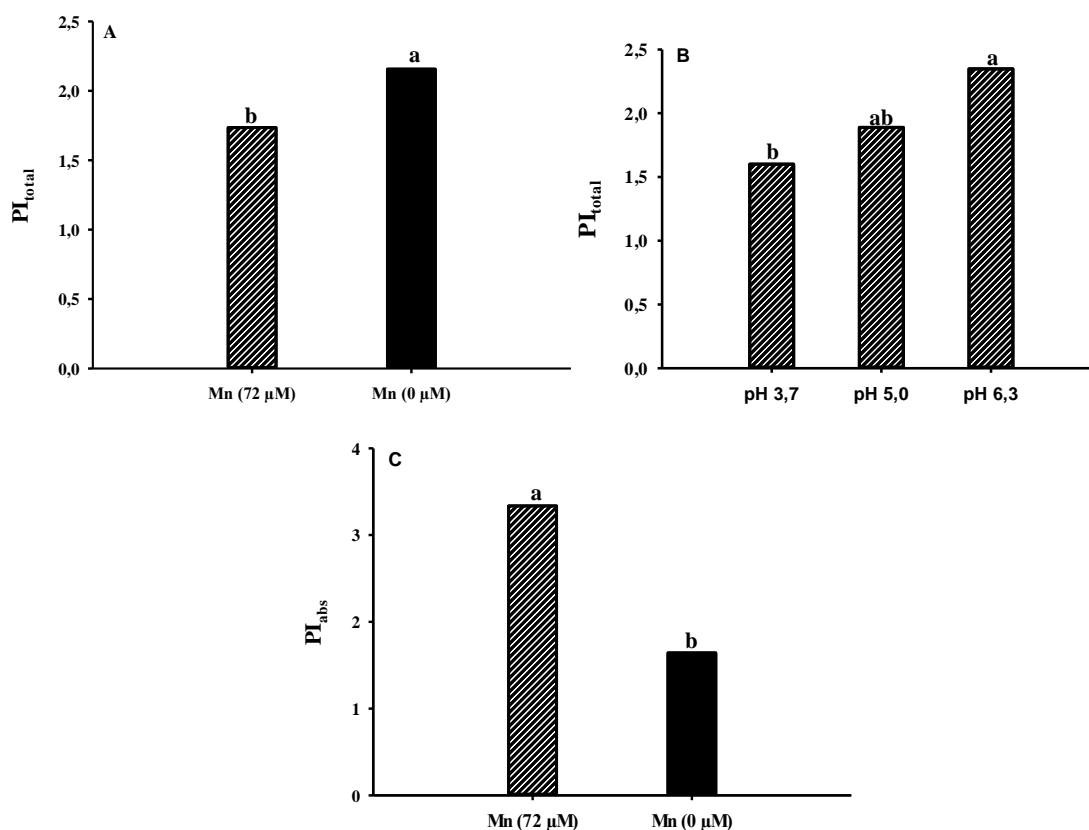


Figura 22. Índice de desempenho fotossintético (PI_{total} e PI_{abs}) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de Mn (A e C) e níveis de pH (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.1.6 Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)

Os tratamentos aplicados via solução de cultivo tiveram influência significativa do fator pH sobre os parâmetros de fotossíntese líquida das plantas dessa cultivar de feijão caupi. Observa-se que o cultivo em areia sob condições de solução nutritiva com nível de pH 3,7 aumentou significativamente ($p < 0,05$) a fotossíntese líquida das plantas, chegando a uma taxa de $18,59 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Houve redução significativa desse parâmetro fotossintético nos níveis de pH 5,0 e 6,3 (Figura 23). Nesses níveis de pH da solução, a redução na taxa de A das plantas foi de aproximadamente 40,73 e 45,56%, respectivamente.

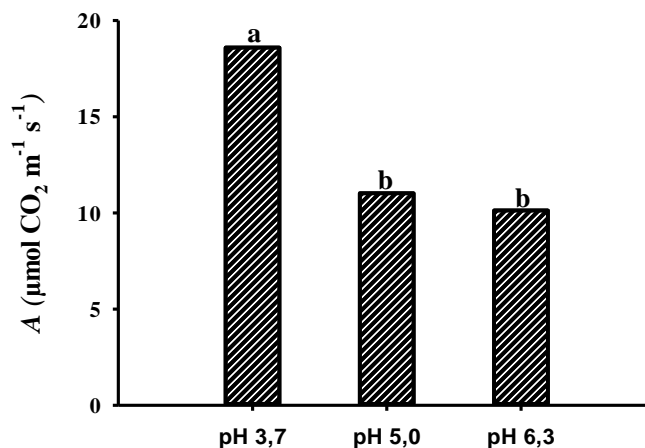


Figura 23. Fotossíntese líquida (A) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito de níveis de pH, após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.1.7 Teor de prolina (BRS Caldeirão)

O teor de prolina na folha dessa cultivar de feijão caupi foi significativamente influenciado apenas pelos níveis de Mn da solução nutritiva. Observa-se que o conteúdo desse aminoácido no tecido foliar das plantas expostas a solução contendo nível de Mn (72 µM) foi significativamente reduzido quando comparado aquelas tratadas com ausência de Mn (Figura 24). Essa redução foi de aproximadamente 24,80%.

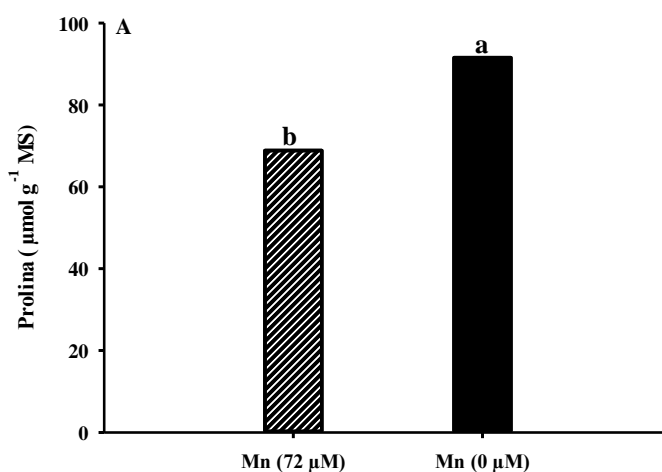


Figura 24. Teor de prolina na folha do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

3.3.1.8 Teor de prolina (*BRS Tracueteua*)

Os tratamentos aplicados via solução de cultivo não tiveram influência significativa ($p < 0,05$) sobre o teor de prolina no tecido de folha dessa cultivar de feijão caupi.

3.3.1.9 Parâmetros de crescimento (*BRS Caldeirão*)

O teste F revelou que os níveis de Mn da solução de cultivo tiveram influência significativa e isolada sobre os parâmetros de produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) das plantas dessa cultivar de feijão caupi. O crescimento e a produção de MSPA e MST foi significativamente ($p < 0,05$) superior quando as plantas de feijão caupi foram cultivadas sob condições de solução nutritiva com nível de Mn ($72 \mu\text{M}$), comparativamente aquelas crescidas com ausência de Mn (Figura 25A e 25B). Esse aumento na produção vegetal de MSPA e MST foi da ordem de 17,17 e 18,83%, respectivamente.

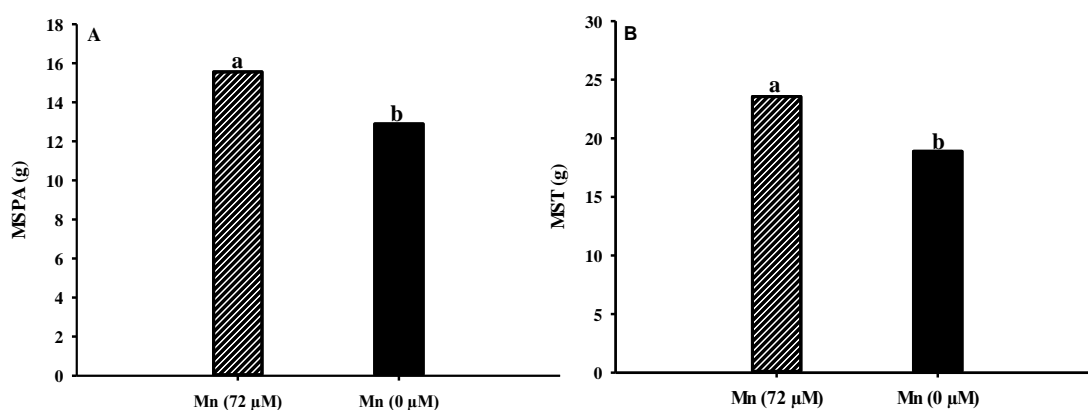


Figura 25. Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) do feijão caupi cv. BRS Caldeirão, em função da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

3.3.1.10 Parâmetros de crescimento (*BRS Tracueteua*)

Constatou-se efeito significativo da interação entre os níveis de Mn e pH sobre a relação massa seca de raiz e massa seca da parte aérea (MSR/MSPA), e efeito isolado do fator Mn sobre a massa seca da folha (MSF). Em relação ao parâmetro MSR/MSPA, observa-se pelo desdobramento do fator Mn dentro do fator pH, que as plantas cultivadas sob condições de solução com ausência de Mn tiveram redução significativa dessa relação apenas dentro do pH 6,3, quando comparado ao nível de $72 \mu\text{M}$ de Mn, sendo que nos demais níveis não houve diferença (Figura 26A). Além disso, nota-se pelo desdobramento do fator pH dentro do fator

Mn, que as plantas submetidas a solução com ausência de Mn não tiveram diferença significativa para essa variável nos níveis de pH estudados, no entanto, no nível de 72 μM de Mn, constatou-se uma redução significativa desse parâmetro nas plantas submetidas ao nível de pH 6,3 quando comparado ao pH 3,7, enquanto no nível de pH 5,0 não houve diferença (Figura 26B).

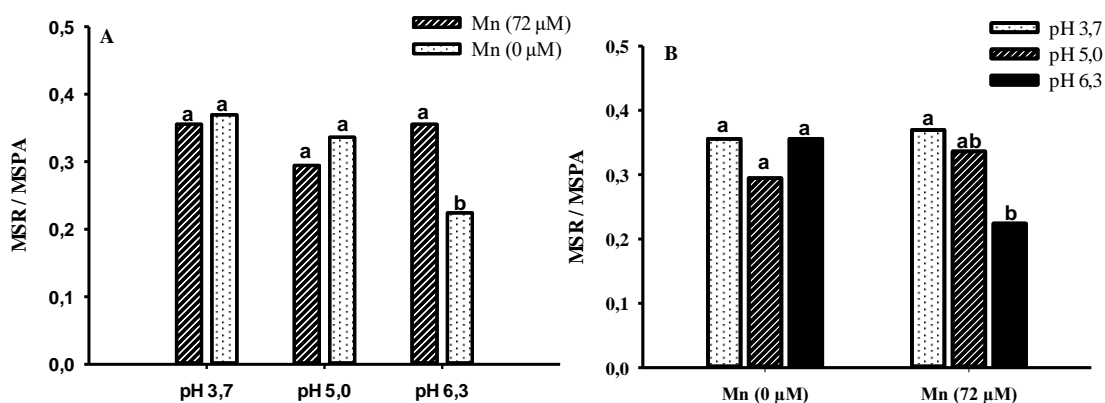


Figura 26. Relação massa seca de raiz / massa seca da parte aérea (MSR/MSPA) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito das concentrações de Mn dentro de níveis de pH (A) e do efeito de níveis de pH dentro das concentrações de Mn (B), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Colunas com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto ao efeito isolado do fator Mn da solução nutritiva sobre a variável MSF, nota-se que as plantas expostas a 72 μM de Mn tiveram redução significativa ($p < 0,05$) desse parâmetro de crescimento, comparativamente aquelas tratadas com ausência de Mn (Figura 27). Essa redução foi de aproximadamente 13,11%.

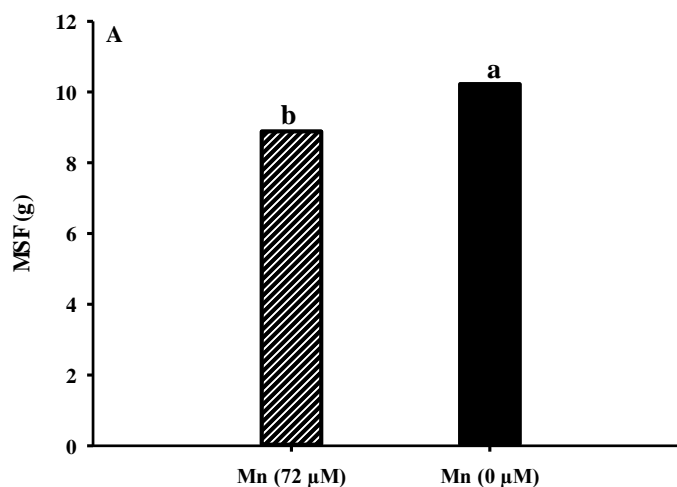


Figura 27. Massa seca da folha (MSF) do feijão caupi cv. BRS Tracuateua, em função do efeito da concentração de manganês (Mn), após 37 dias de contato das plantas com os tratamentos. Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Interação Mn x pH

3.4.1.1 Teor de nutrientes na folha (Cultivar BRS Caldeirão)

Os menores teores de N e P na folha do feijão caupi indicam que o nível de 72 µM de Mn promoveu redução na absorção e no transporte desses nutrientes para a parte aérea, o que provavelmente se deve ao efeito negativo do excesso de Mn na solução sob tais condições de cultivo. Esse resultado concorda com aqueles obtidos por Veloso et al. (1995 onde os autores observaram redução da absorção de fósforo em função da exposição das plantas de pimenteira a elevadas doses de Mn na solução nutritiva. Langille e Batteesse (1974) constataram pequenos efeitos de redução na absorção de nitrogênio em plantas sujeitas ao excesso de Mn (25 mg L⁻¹), no entanto, os autores também observaram uma tendência de aumento na absorção de P em função do aumento das doses de Mn. Em relação ao teor de ferro na folha, os resultados do presente estudo indicaram aumento do teor desse nutriente pela exposição ao excesso de Mn de 72 µM, concordando com o trabalho de Langille e Batteesse (1974), onde os autores observaram um aumento na absorção de Fe quando as plantas foram expostas a concentração de 10 mg L⁻¹ de Mn, bem como os resultados de Pavan e Bingham (1981), que

observaram teores de Fe acima do nível considerado normal para o tecido foliar de plantas de cafeeiro, apesar de as mesmas terem apresentado sintomas característicos de deficiência de Fe nas folhas.

A redução observada na absorção de P pode estar associada a precipitação de P como fosfato de manganês nos tecidos da raiz, possivelmente como um mecanismo de defesa para reduzir o transporte de Mn para parte aérea das plantas (e.g. PAVAN e BINGHAM, 1981).

3.4.1.2 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

A análise do estado nutricional indicou que os tratamentos estudados afetaram a nutrição mineral de Mn e Zn das plantas do fatorial em relação ao tratamento controle. O excesso de Mn na solução nutritiva tende a resultar em aumento dos teores desses nutrientes nos tecidos das folhas das plantas, como evidenciado pelos resultados do presente estudo, em particular nos tratamentos com concentração de 72 μM de Mn. De acordo com (FOY, 1976), as condições de maior concentração de Mn na solução, em geral, favorecem a absorção de manganês pelas plantas. No entanto, a elevada concentração foliar desse micronutriente, frequentemente resultando em toxicidade de Mn para as plantas, que pode se manifestar pelo surgimento de clorose e manchas necróticas no limbo foliar, inicialmente a clorose ocorre nas folhas mais novas, depois, com o avanço, manchas necróticas aparecem nas folhas velhas (KOHNO e FOY, 1983). Esse fato foi pouco observado para essa cultivar de feijão caupi, o que pode indicar que essa cultivar possui mecanismos de tolerância, acumulando o excesso de Mn nos tecidos foliares.

Em relação ao comportamento de nutrição mineral de Zn, os resultados revelaram aumento dos teores foliares em plantas submetidas a ausência de Mn em condições de pH mais ácido. Este micronutriente desempenha papel importante em vários processos metabólicos, atuando na síntese de ácidos nucleicos, carboidratos e metabolismo de lipídeos (MARSCHNER, 1995). He et al. (1999) observaram aumento dos teores de Zn, Fe e Mn em folhas de plantas expostas a reduções nos níveis de pH da solução. A nutrição mineral de Zn é importante para qualidade nutricional do feijão caupi, pois a cultura apresenta elevados teores de Zn, proteínas, fibras, além e outros minerais na sua composição química (FROTA et al., 2008).

3.4.1.3 Estado nutricional (BRS Tracueteua)

O excesso de Mn (72 μ M) na solução de cultivo afetou positivamente a qualidade nutricional das plantas dessa cultivar, especialmente quanto a nutrição mineral de K, Mg e Mn, promovendo aumento nos teores desses nutrientes na folha, enquanto as plantas cultivadas sem a presença de Mn tiveram redução no teor desses nutrientes. Esse comportamento explica o melhor desempenho fotossintético e a melhor qualidade nutricional das plantas expostas ao estresse por excesso de Mn na solução de cultivo. O pH baixo da solução afetou o comportamento de nutrição de Mg e Zn, reduzindo a absorção e o transporte para a parte aérea, o que está associado a competição pelos sítios de absorção das proteínas carregadoras na superfície das membranas celulares da raiz. O Zn é um micronutriente importante para o metabolismo vegetal, atuando principalmente como um ativador enzimático (BEZERRA NETO et al., 2014). O Mg por sua vez é um constituinte da molécula de clorofila, atuando também como ativador de enzimas envolvidas principalmente no processo de fotossíntese e na respiração das plantas (MARSCHNER, 2012).

3.4.1.4 Contraste entre a média do tratamento controle vs média dos demais tratamentos

A análise do estado nutricional indicou que os tratamentos estudados afetaram a nutrição mineral de Mn e Zn das plantas do fatorial em relação ao tratamento controle, como também observado para o comportamento da cultivar BRS Caldeirão. As plantas expostas a solução nutritiva sem Mn apresentaram sintomas típicos de deficiência desse nutriente na folha, que é reforçado pelo baixo teor desse nutriente constatado pela análise química do estado nutricional. Por outro lado, a concentração de Mn de 72 μ M na solução nutritiva resultou em aumento dos teores desse nutriente nos tecidos das folhas das plantas (Figura 20), o que pode ter resultado em toxidez por esse metal na folha, como evidenciado pela menor produção de massa seca da folha e os sintomas visuais de toxidez. De acordo com Foy (1976), as condições de acidez da solução aumentam a disponibilidade de Mn na solução e favorece a absorção pelas plantas, resultando em aumento dos teores na folha. A alta concentração foliar desse micronutriente, frequentemente pode levar a toxicidade de Mn para as plantas, que pode se manifestar pelo surgimento de clorose e manchas necróticas no limbo foliar, inicialmente a clorose ocorre nas folhas mais novas, depois, com o avanço, manchas necróticas aparecem nas folhas velhas (KOHNO e FOY, 1983), corroborando os sintomas observados no presente estudo para essa cultivar.

Em relação ao comportamento de nutrição mineral de Zn, os resultados revelaram que essa cultivar teve o mesmo padrão de comportamento da BRS Caldeirão, com aumento dos teores foliares em plantas submetidas a ausência de Mn em condições de pH mais ácido. He et al. (1999) observaram aumento dos teores de Zn, Fe e Mn em folhas de plantas expostas a reduções nos níveis de pH da solução. A nutrição mineral de Zn é importante para qualidade nutricional do feijão caupi, pois a cultura apresenta elevados teores de Zn, proteínas, fibras, além e outros minerais na sua composição química (FROTA et al., 2008).

3.4.1.5 Parâmetros fotossintéticos (BRS Caldeirão)

O resultado indicando índices significativamente menores para relação (Fv/Fm) nas plantas expostas ao estresse pela deficiência de Mn em relação aquelas com nível de Mn (72 μM), possivelmente reflete um menor desempenho fotoquímico pela redução da eficiência no fluxo de elétrons do fotossistema II (PSII), o que pode ser decorrente de danos fotoinibitórios ao aparato fotossintético nas membranas tilacóides dos cloroplastos. Em plantas, a relação Fv/Fm tem sido frequentemente utilizada como um indicador de estresse abiótico. De acordo com Krause et al. (2001), os valores de Fv/Fm abaixo do nível de referência de 0,80 para a maioria das plantas, significa que estas foram estressadas, implicando em redução do rendimento quântico máximo do fotossistema II (FSII). Por outro lado, os valores de Fv/Fm iguais ou superior ao índice de referência indica que as folhas estão no seu estado saudável e com ausência de fotoinibição (BJÖRKMAN e DEMMIG-ADAMS, 1987). No caso das plantas expostas ao excesso de Mn na solução com teor de Mn de 72 μM , esse parâmetro teve valores mais elevados em relação as plantas tratadas sem Mn, sugerindo uma maior eficiência fotoquímica no uso da radiação e maior capacidade fotossintética. A maior capacidade fotossintética é essencial para aumentar o crescimento e a produção de biomassa, como foi evidenciado pelos parâmetros de crescimento dessa cultivar, especialmente MSPA e MST (Figura 21A e 21B). Em contraste, o efeito negativo sobre a atividade fotossintética das plantas expostas ao estresse pela deficiência de Mn promoveu distúrbios fisiológicos na produção de fotoassimilados, conseqüentemente reduzindo o crescimento e a produção de matéria seca, conforme demonstrado nos gráficos.

Quanto aos parâmetros de desempenho fotoquímico relacionados a fluorescência da clorofila *a* (PI_{abs} e PI_{total}), os resultados mostraram que as plantas tiveram aumento no índice PI_{abs} pela exposição ao teor de Mn de 72 μM , o que indica maior capacidade de absorção e

aproveitamento da energia luminosa, em relação as plantas expostas ao estresse pela deficiência mineral de Mn.

3.4.1.6 Parâmetros fotossintéticos (BRS Tracuateua)

As plantas dessa cultivar foram influenciadas positivamente pelo nível de pH da solução nutritiva, notadamente no valor de pH mais baixo (3,7). A maior taxa de fotossíntese líquida nesse nível de pH pode estar associado ao melhor estado nutricional das plantas, especialmente quando submetidas a essas condições de pH baixo, onde as plantas extraíram maior quantidade de nutrientes como potássio, manganês e zinco, comparado as plantas expostas ao pH mais elevado. Esse comportamento pode ser considerado uma característica importante para o cultivo da espécie em solos ácidos. Esses nutrientes desempenham importante função no metabolismo e no desempenho fotossintético das plantas, especialmente o Mn, devido sua participação na estrutura de proteínas fotossintéticas e enzimas (MILALEO et al., 2010), como um constituinte essencial da proteína responsável pela degradação da molécula de água no FSII, fornecendo os elétrons necessários para o processo de fotossíntese (MARSCHNER, 1995).

3.4.1.7 Teor de prolina na folha (BRS Caldeirão)

Para essa cultivar de feijão caupi, o aumento do teor de prolina na folha pode ser atribuído ao efeito negativo da falta de Mn na solução de crescimento, sendo, portanto, uma resposta metabólica ao estresse nutricional. De acordo com Göring e Thien (1979), o acúmulo de prolina no tecido vegetal pode ocorrer como resposta metabólica ao estresse pela deficiência nutricional, como também é comum ocorrer em resposta a outros tipos de estresse abiótico. Em estudo de Oustric et al. (2019) avaliando a resposta de genótipos de citrus ao estresse nutricional os autores observaram aumento no teor de prolina. Os sintomas visuais de deficiência desse mineral observados na folha foram reforçados também pelos dados químicos do estado nutricional das plantas, as quais foram submetidas ao estresse abiótico pela ausência desse micronutriente por 37 dias (Figura 24). O acúmulo de elevados teores do aminoácido prolina no tecido vegetal tem sido considerado uma resposta metabólica das plantas ao estresse (DELAUNEY e VERMA, 1993; GIANNAKOULA et al., 2008; SZABADOS e SAVOURÉ, 2010). Sob condição de estresse, o conteúdo desse aminoácido pode ter um aumento de até 100% (VERBRUGGEN e HERMANS, 2008). O estresse pela deficiência de micronutrientes como o Mn pode promover alterações na atividade de enzimas antioxidantes,

especialmente as enzimas dependentes do Mn, refletindo em aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e conseqüentemente em danos oxidativos aos componentes celulares (YU et al., 1998).

Por sua vez, o menor conteúdo de prolina no tecido da folha dessas plantas pode ser atribuído a um efeito positivo do teor de 72 μM de Mn na solução sobre a nutrição mineral e os processos fotossintéticos, principalmente os parâmetros fotoquímicos como eficiência quântica máxima (F_v/F_m) e índice PI_{abs} (Figura 21 e 22), em contraste com o efeito negativo observado sobre as plantas cultivadas sem Mn. Em plantas, de acordo com (REJEB et al., 2014), o conteúdo de prolina no tecido vegetal pode proporcionar efeito atenuante contra o estresse abiótico, atuando como uma forma de proteção antioxidante.

3.4.1.8 Teor de prolina na folha (BRS Tracuateua)

O acúmulo de prolina nessa cultivar não teve influência significativa dos tratamentos aplicados, o que pode estar associado ao maior grau de tolerância e de adaptação dessa cultivar ao estresse abiótico, como ao ambiente de solos com pH ácido. Sieprawska et al. (2016) investigando a resposta de células *in vitro* de trigo ao excesso de Mn, observaram que a cultivar tolerante apresentou menor desse aminoácido em relação a cultivar sensível.

3.4.1.9 Parâmetros de crescimento e produção de biomassa (BRS Caldeirão)

O melhor desempenho dos parâmetros de crescimento e produção biomassa seca da parte aérea e total das plantas de feijão caupi expostas aos tratamentos com nível de Mn (72 μM) pode ser atribuído ao efeito positivo do teor desse nutriente sobre os processos metabólicos e fisiológicos. Mota et al. (2018), também observaram aumento na produção de massa seca da parte aérea do feijão caupi utilizando doses mais elevadas de Mn em experimentos com solo. De acordo com a literatura (FONSECA et al., 2010), na cultura do feijão caupi, o Mn constitui o terceiro micronutriente mais extraído. Esse micronutriente desempenha função importante no processo de fotossíntese das plantas (MUKHOPADHYAY e SHARMA, 1991; FAGERIA, 2001), especialmente como constituinte da proteína envolvida na fotólise da molécula de água e na síntese de clorofila (MARSCHNER, 1995; FAGERIA, 2001). O papel importante do Mn e o seu efeito positivo sobre os processos fisiológicos e a qualidade nutricional das plantas foram constatados no presente estudo, demonstrando que o

nível de Mn testado pode ter efeitos positivos sobre o crescimento e a produtividade vegetal, particularmente para essa cultivar.

3.4.1.10 Parâmetros de crescimento e produção de biomassa (BRS Tracuateua)

A relação da biomassa de raiz com a biomassa da parte aérea pode fornecer informações sobre o particionamento de carbono e a alocação de fotoassimilados pela planta. O desdobramento do efeito da interação revelou que o cultivo das plantas sob condições de pH menos ácido (5,0 e 6,3) e teor de 72 μM de Mn proporcionou maior direcionamento de fotoassimilados para o crescimento e a produção de biomassa da parte aérea, o que pode ser explicado pelo comportamento nutricional, onde foi constatado que houve aumento na absorção e no transporte para parte aérea de nutrientes como Mn, Zn, Mg a medida que o nível de pH da solução foi aumentado (Figura 26D e 26E e Figura 27). Mota et al. (2018) mencionam que possivelmente as plantas de feijão caupi submetidas a elevadas concentrações de Mn tendem a acelerar o seu crescimento vegetativo devido ao efeito de toxidez por este metal, a fim de atingir o período reprodutivo, sendo este um mecanismo de proteção da espécie. No caso das plantas submetidas ao estresse pela deficiência de Mn, é provável que o crescimento e a alocação de biomassa para os tecidos da raiz seja uma forma de aumentar a superfície do sistema radicular, e assim absorver maior quantidade de nutrientes para suprir suas necessidades nutricionais. Isso foi constatado pelo comportamento nutricional das plantas expostas aos tratamentos com ausência de Mn, observando-se maior absorção de Zn em relação ao controle (Figura 27).

3.5 CONCLUSÕES

1. O excesso de manganês não teve efeito de toxicidade sobre o desempenho de crescimento e produção de biomassa seca da parte aérea para cultivar BRS Caldeirão, porém reduziu o rendimento de biomassa seca da folha na BRS Tracuateua.
2. As cultivares BRS Caldeirão e BRS Tracuateua de feijão caupi variaram quanto ao grau de tolerância ao excesso de Mn e níveis de H. A primeira cultivar é mais tolerante ao excesso de Mn sob condições ácidas, comparado a segunda.
3. As respostas fisiológicas e bioquímicas apresentadas pelos genótipos BRS Caldeirão e BRS Tracuateua indicam que o aumento da concentração de hidrogênio, teve efeito positivo, especialmente sobre a BRS Caldeirão, indicando boa adaptação e potencial para o cultivo sob condições ácidas.

REFERÊNCIAS

- AKINRINDE, E. A.; IROH, L.; OBIGBESAN, G. O.; HILGER, T.; NEUMANN, G.; ROMHELD, V. Differential expression of aluminium tolerance mechanisms in cowpea genotypes under phosphorus limitation. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 854-859, Apr. 2006.
- BEZERRA NETO, F.; OLIVEIRA, L.; SANTOS, A.; LIMA, J.; SILVA, Í. Otimização agroeconômica da cenoura fertilizada com diferentes doses de jirirana. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, p. 305-311, abr./jun. 2014.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, p. 489-504, Apr. 1987.
- CARNEIRO, J.P.; VARENNE, A.; AMANTE, H. Manganese toxicity in three species of annual medicis. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 12, p. 1957-1964, May 2001.
- CARVALHO, H. W. L.; BRITO NETO, J.; FREIRE FILHO, F. J. Desempenho de linhagens avançadas de feijão-caupi no nordeste brasileiro. **Revista Científica Rural**, v. 13, n. 1, p. 126-138, nov. 2011.
- CASSIOLATO, M. E.; MEDA, A. R.; PAVAN, M. A.; MIYAZAWA, M.; OLIVEIRA, J. C. Evaluation of oat extracts on the efficiency of lime in soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 43, n. 5, p. 533-536, May 2000.
- CORREA, A. M.; CECCON, G.; CORREA, C. M. A.; DELBEN, D. S. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres**, v. 59, p. 88-94, jan./fev. 2012.
- DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v. 4, n. 2, p. 215-223, Aug. 1993.
- FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 8, p. 1269-1290, Jul. 2001.
- FONSECA, M. R.; FERNANDES, A. R.; SILVA, G. R.; BRASIL, E. C. Teor e acúmulo de nutrientes por plantas de feijão-caupi em função do fósforo e da saturação por bases. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 53, n. 2, p. 195-205, jul./dez. 2010.
- FOY, C. D. Differential aluminium and manganese tolerances of plant species and varieties in acid soils. **Ciência e Cultura**, v. 28, n. 2, p. 150-155, fev. 1976.
- FOY, C. D. Soil chemical factors limiting plant root growth. **Advances in Soil Science**, v. 19, p. 97-148, Jan. 1992.
- FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, Jun. 1978.

FREIRE FILHO, F. R. (Ed.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011, 84 p.

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. A. Adaptabilidade e estabilidade produtiva de feijão-caupi. *Ciência Rural*, v. 35, n. 1, p. 24-30, fev. 2005.

FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. *Journal of Food Science*, v. 73, n. 9, p. 235-240, Nov. 2008.

FÜHRS, H.; GÖTZE, S.; SPECHT, A.; ERBAN, A.; GALLIEN, S.; HEINTZ, D.; VAN DORSSELAER, A.; KOPKA, J.; BRAUN, H. P.; HORST, W. J. Characterization of leaf apoplastic peroxidases and metabolites in *Vigna unguiculata* in response to toxic manganese supply and silicon. *Journal of Experimental Botany*, v. 60, n. 6, p. 1663-1678, Mar. 2009.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology*, v. 165, n. 4, p. 385-396, Mar. 2008.

GÖRING, H.; THIEN, B. H. Influence of nutrient deficiency on proline accumulation in the cytoplasm of *Zea mays* L. seedling. *Plant Biochemistry and Physiology*, v. 174, n. 1, p. 9-16, Jul. 1979.

GOUSSIAS, C.; BOUSSAC, A.; RUTHERFORD, W. Photosystem II and photosynthetic oxidation of water: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 357, n. 1426, p. 1369-1381, Oct. 2002.

HE, Z. L.; ALVA, A. K.; CALVERT, D. V.; LI, Y. C.; BANKS, D. J. Effects of nitrogen fertilization of grapefruit trees on soil acidification and nutrient availability in a Riviera fine sand. *Plant Soil*, v. 206, n. 1, p. 11-19, Set. 1999.

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

HORST, W. J. Factors responsible for genotypic manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Plant and Soil*, v. 72, n. 2, p. 213-218, Feb. 1983.

HORST, W. J.; MARSCHNER, H. Effect of excessive manganese supply on uptake and translocation of calcium in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, v. 87, n. 2, p. 137-148, Apr. 1978.

KINRAIDE, T. B. Identity of the rhizotoxic aluminum species. *Plant Soil*, v. 134, p. 167-178, Jul. 1991.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interactive effects of Al³⁺, H⁺ and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. *Plant Physiology*, v. 99, p. 1461-1468, Aug. 1992.

KOHNO, Y.; FOY, C. D. Manganese toxicity in bush bean as affected by concentration of manganese and iron in the nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 363-386, Nov. 1983.

KRAUSE, S. A.; MARIE, L. L.; VASS, S.; SCHOENFELDER, S.; HARRISON, S.; HECK, M. M. S. Loss of cell cycle checkpoint control in *Drosophila* Rfc4 mutants. **Molecular and Cellular Biology**, v. 21, n. 15, p. 5156-5168, Aug. 2001.

LANGILLE, A. R.; BATTEESE, R. I. Influence of zinc concentration in nutrient solution on growth and elemental content of the "Katahdin" potato plant. **American Potato Journal**, v. 51, p. 345-354, Nov. 1974.

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

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1995, 889 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Elsevier, 2012, 643 p.

MILALEO, R.; REYES-DIAZ, M.; IVANOV, A. G.; MORA, M. L.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 470-481, Mar. 2010.

MORONI, J. S.; SCOTT, B. J.; WRATTEN, N. Differential tolerance of high manganese among rapeseed genotypes. **Plant and Soil**, v. 253, p. 507-519, Jun. 2003.

MOTA, M. A.; MACHADO FILHO, G. C.; ROCHA, W. S.; SILVA, F. R.; SANTOS, M. M. Efeito de doses de manganês no desenvolvimento de feijão-caupi. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 12, n. 3, p 7-13, Set. 2018.

MUKHOPADHYAY, M. J.; SHARMA, A. Manganese in cell metabolism of higher plants. **Botanical Review**, v. 57, p. 117-149, Apr. 1991.

OUSTRIC, J.; MORILLON, R.; LURO, F.; HERBETTE, S.; MARTIN, P.; GIANNETTINI, J.; BERTI, L.; SANTINI, J. Nutrient deficiency tolerance in citrus is dependent on genotype or ploidy level. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 127, p. 127, Feb. 2019.

PAVAN, M. A; BINGHAM, F. T. Toxidez de metais em plantas. I. Caracterização de toxidez de manganês em cafeeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n. 6, p. 825-821, jun. 1981.

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

RAYEN, M.; REYES-DÍAZ, M.; IVANOV, A.; MORA, M. L.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: Transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, p. 476 - 494, Dec. 2010.

SANTOS, J. A. S.; SOARES, C. M. G.; CORRÊA, A. M.; TEODORO, P. E.; RIBEIRO, L. P.; ABREU, H. K. A. Agronomic performance and genetic dissimilarity among cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) genotypes. **Global Advanced Research Journal of Agricultural Science**, v. 3, n. 8, p. 205-211, Aug. 2014.

SHAPIRO, S.; WILK, M. An analysis of variance test for normality (Complete samples). **Biometrika**, vol. 52, n. 3/4, p. 591-611, Dec. 1965.

SIEPRAWSKA, A.; FILEK, M.; TOBIASZ, A.; WALAS, S.; DUDEK-ADAMSKA, D.; GRYGO-SZYMANKO, E. Trace elements' uptake and antioxidant response to excess of manganese in vitro cells of sensitive and tolerant wheat. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 55, p. 1-12, Feb. 2016.

SORATTO, R. P.; SILVA, T. R. B.; BORGHI, E.; SILVA, L. M.; ROSOLEM, C. A. Resposta de quatro cultivares de feijão ao manganês em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 11, n. 2, p. 235-240, abr./jun. 2005.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a. *In*: PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJEE (Eds.). **Fluorescence transient chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis**. Netherlands: Spring, 2004. v. 14, p. 321-362.

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

VELOSO, C. A. C.; MURAOKA, T.; MALAVOLTA, E.; CARVALHO, J. G. Influência do manganês sobre a nutrição mineral e crescimento da pimenteira do reino. **Scientia Agricola**, v. 52, n. 2, p. 376-383, mai./ago. 1995.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline Accumulation in Plants: A Review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, Apr. 2008.

YU, Q.; OSBORNE, L.; RENGEL, Z. Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, v. 7, p. 1427-1437, Jan./Dec. 1998.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE, C.; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1797, n. 8, p. 1428-1438, Aug. 2010.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com os experimentos em casa de vegetação, especialmente sob condições controladas de cultivo em areia com uso de solução de nutrientes, possibilitaram a ampliação do conhecimento sobre o comportamento fisiológico, metabólico e nutricional do feijão caupi quando exposto ao estresse por excesso de metais como Al e Mn na solução com pH ácido. Sob essas condições, os genótipos estudados apresentaram variações quanto ao grau de tolerância, reforçando a grande importância na variedade genética dessa espécie para os estudos de seleção de cultivares com características que são desejáveis de adaptação as condições de estresse ambiental. As respostas das plantas indicaram que a cultivar BRS Caldeirão apresenta mecanismos de tolerância e de adaptação mais eficientes do que a BRS Tracuateua, revelando maior potencial para o cultivo em solos com elevada concentração de hidrogênio, como os solos ácidos.