

## ESTUDO DA AÇÃO DE OSMOPROTETORES NA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* EM PLANTAS DE FEIJÃO SUBMETIDAS À SUPRESSÃO HÍDRICA<sup>1</sup>

F. J. de C. Bastos<sup>2</sup>, F. A. L. Soares<sup>3</sup>, C. J. Tavares<sup>4</sup>, L. M. de F. Moura<sup>5</sup>, A. J. Crispim Filho<sup>6</sup>,  
R. de O. Silva Filho<sup>7</sup>

**RESUMO:** O uso de osmoprotetores na agricultura tem se mostrado uma estratégia benéfica para a mitigação dos efeitos deletérios do déficit hídrico em plantas cultivadas. Diante disso, objetivou-se avaliar os efeitos da aplicação de osmoprotetores nas características de fluorescência da clorofila *a* de plantas de feijão submetidas à supressão hídrica. O experimento foi conduzido em campo, sob delineamento de blocos casualizado em parcelas subdivididas em esquema fatorial 4x7, com três repetições. Os tratamentos consistiram em diferentes períodos de supressão de irrigação (0, 7, 14 e 21 dias) e sete tipos de osmoprotetores à base de extratos de algas marinhas. Os osmoprotetores foram aplicados no estágio R6 e três dias após a irrigação foi suspensa. Foram avaliados os rendimentos quânticos potencial ( $F_v/F_m$ ) e efetivo ( $\Delta F/F_m'$ ) do fotossistema II, a taxa de transporte de elétrons (*ETR*) e o coeficiente de dissipação não-fotoquímica (*NPQ*). Observou-se reduções significativas no  $\Delta F/F_m'$  e na *ETR* do feijoeiro com 21 dias de déficit hídrico. A aplicação dos osmoprotetores, no entanto, não permitiram a manutenção desses parâmetros. Assim, o uso dos osmoprotetores não foram efetivos em minimizar os efeitos do estresse hídrico em plantas de feijão nas condições avaliadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Phaseolus vulgaris* L., fotossíntese, déficit hídrico.

## STUDY OF THE ACTION OF OSMOPROTECTANTS IN THE CHLOROPHYLL *a* FLUORESCENCE OF IN BEANS PLANTS SUBMITTED TO WATER SUPPRESSION

<sup>1</sup> Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias-Agronomia/IF Goiano – Campus Rio Verde.

<sup>2</sup> Mestre, Engenheiro Agrônomo, Rio Verde – Goiás. Email: fabianojcbastos@gmail.com

<sup>3</sup> Doutor, Professor do IF Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás. Email: fredalsoares@hotmail.com

<sup>4</sup> Mestre, Professor do IF Goiano – Campus Posse, Posse – Goiás. Email: cassiojardimtavares@hotmail.com

<sup>5</sup> Doutoranda, IF Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – Goiás. Email: lucianaminervina@gmail.com

<sup>6</sup> Mestrando, PPGMP/UFG, Goiânia – Goiás. Email: aitonfilho\_@hotmail.com

<sup>7</sup> Engenheiro Agrônomo, Rio Verde – Goiás. Email: robsonagro2015@gmail.com

**ABSTRACT:** The use of osmoprotectants in agriculture has been shown to be a beneficial strategy to mitigate the deleterious effects of water deficit on cultivated plants. The objective of this study was to evaluate the effects of the osmoprotectants application on the chlorophyll *a* fluorescence characteristics of bean plants subjected to water suppression. The experiment was conducted in field, under a randomized block design, in split plots, arranged in a 4x7 factorial scheme, with three replications. The treatments consisted of different periods of irrigation suppression (0, 7, 14 and 21 days) and seven types of osmoprotectants based on seaweed extracts. Osmoprotectors were applied at the R6 stage and three days later the irrigation was suspended. Potential ( $F_v/F_m$ ) and effective ( $\Delta F/F_m'$ ) quantum yields of photosystem II, the electron transport rate (*ETR*) and the non-photochemical dissipation coefficient (*NPQ*) were evaluated. Significant reductions in the  $\Delta F/F_m'$  and *ETR* of the bean were observed whit 21 days of water deficit. The application of the osmoprotectants, however, did not allow the maintenance of these parameters. Thus, the use of osmoprotectants was not effective to minimize the effects of water stress in bean plants under the conditions evaluated.

**KEYWORDS:** *Phaseolus vulgaris* L., photosynthesis, water deficit.

## INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) é um produto de relevante importância nutricional, econômica e social em vários países, no Brasil ocupa papel de destaque na dieta alimentar da população (Beebe et al., 2013). Apesar da sua importância, a produção não tem acompanhado o consumo, em grande parte, devido às limitações impostas pela restrição hídrica ao cultivo de feijão em várias regiões produtoras (Tagliaferre et al., 2013).

O déficit hídrico, ocasionado pela irregularidade e má distribuição das chuvas, está entre as principais causas de insucesso na agricultura. As quedas de produtividade em plantas de feijão refletem distúrbios fisiológicos causados pela baixa disponibilidade de água em processos como o crescimento e a fotossíntese (Carvalho et al., 2014). A diminuição no rendimento quântico do fotossistema II e no transporte de elétrons e os danos na proteína D1 culminam no declínio da eficiência fotossintética em plantas sob estresse (Chaves et al., 2009; Dias & Brüggemann, 2010). Os efeitos deletérios do déficit hídrico podem ser mitigados com o uso osmoprotetores, que promove uma maior tolerância a condição de estresse. Os osmoprotetores são substâncias ligadas à defesa das plantas, cujos compostos podem atuar na

sinalização em tecidos vegetais, estabilidade das membranas celulares e regulação da maquinaria fotossintética (Bettini, 2015).

Osmoprotetores a base de extratos de alga vem sendo utilizados na agricultura com o intuito de otimizar e sustentar os cultivos em áreas com risco de seca, alavancando a produtividade das culturas (Sharma et al., 2014). No entanto, pouco se conhece sobre os efeitos da aplicação destas substâncias, associadas a extratos de algas, na fisiologia de plantas de feijão. A técnica de medição de fluorescência da clorofila, cujos parâmetros são indicativos da capacidade fotossintética em plantas, constitui um método vantajoso, rápido e não destrutivo para o estudo da fotossíntese e monitoramento do aproveitamento da energia luminosa através do fotossistema II. O uso desta ferramenta amplia o conhecimento dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos ocorridos na membrana dos tilacóides dos cloroplastos, possibilitando a avaliação precoce do impacto de estresses ambientais sobre as plantas (Maxwell & Johnson, 2000).

A hipótese, neste estudo, é de que o uso de osmoprotetores à base de extratos de algas marinhas atenuaria os danos causados pelo déficit hídrico na etapa fotoquímica da fotossíntese, aumentando a tolerância a seca em plantas de feijão. Deste modo, objetivou-se avaliar os efeitos da aplicação de osmoprotetores nas características de fluorescência da clorofila *a* de plantas de feijão submetidas à supressão hídrica.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo, na área experimental do IF Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás, sob altitude de 750 m. O Clima, na região de Rio Verde, é do tipo Aw – Tropical (Köppen-Geiger), com chuvas no verão (outubro a abril) e um período de seca durante a estação de inverno (maio a setembro). As características químicas do solo, classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (LVdf), de textura média (Embrapa, 2013), na profundidade de 0,00 a 0,20 m estão descritas na Tabela 1.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com três repetições, analisado em esquema de parcelas subdivididas (4 x 7), sendo os períodos de supressão de irrigação (0, 7, 14 e 21 dias) alocados nas parcelas e a aplicação dos osmoprotetores à base de extratos de algas marinhas (T1- EA/GB/KPM/AS; T2- EA/GB/KPM; T3-EA/AS/KPM; T4-EA/KPM; T5-EA/GB; T6- EA; T7- sem aplicação de osmoprotetores) nas subparcelas.

As unidades experimentais foram compostas por quatro linhas de feijão com 5 m de comprimento, sendo consideradas para as avaliações fisiológicas apenas as duas linhas centrais

em cada parcela, descartando-se 0,50 m em cada extremidade. As sementes de feijão da cultivar BRS Estilo foram semeadas manualmente, distribuindo-se 14 sementes por metro linear de sulco, em um espaçamento de 0,50 m entre linhas. Na adubação foram utilizados 300 kg ha<sup>-1</sup> de adubo formulado 4-30-16 na semeadura e, 300 kg ha<sup>-1</sup> de ureia, divididos em duas aplicações, aos 20 e 35 dias após a emergência (DAE), na adubação de cobertura. Os tratos culturais, visando o controle de plantas daninhas, pragas e doenças foi realizado segundo o recomendado para a cultura do feijão, sempre que necessário.

O sistema de irrigação utilizado foi o de gotejamento superficial, com vazão nominal de 1,0 L h<sup>-1</sup> e espaçamento entre gotejadores de 0,20 m. A irrigação foi conduzida com base em tensiometria digital e com leituras do potencial matricial do solo registradas diariamente. A necessidade de irrigação para a cultura foi determinada com base na tensão crítica de 50 KPa. Os tratamentos à base de extratos de algas foram feitos com um pulverizador costal, equipado com cilindro de CO<sub>2</sub>, a pressão constante de 2,5 bar, equipado com barra de aplicação com quatro pontas tipo leque modelo TT11002, aplicando-se o equivalente a 150 L ha<sup>-1</sup> de calda, no estágio de floração plena do feijoeiro (estádio R6). Os tratamentos de supressão de irrigação se iniciaram após três dias da aplicação dos osmoprotetores, com suspensão da irrigação em todos os tratamentos, exceto no controle (T7). Após 7, 14 e 21 dias se restabeleceu as irrigações nos respectivos períodos de supressão, conforme a necessidade hídrica da cultura, até a maturação fisiológica.

As medições de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias, utilizando um fluorômetro portátil modulado MINI-PAM, modelo 2030-B (Walz, Efeltrich, Alemanha), equipado com uma pinça especial para suporte da folha. O rendimento quântico potencial do fotossistema II (Van Kooten & Snel, 1990) foi calculado após 30 minutos de adaptação da folha ao escuro por meio de pinças, como  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ , em que  $F_o$  é a fluorescência mínima, excitada por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade (0,03  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), e  $F_m$  é a fluorescência máxima obtida pela aplicação de um pulso de 0,8 segundos de luz actínica saturante ( $>3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Genty et al., 1989) foi determinado pela sobreposição de um pulso de saturação em folhas previamente adaptadas à luz ambiente, sendo calculado como  $\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$ , em que  $F$  é o rendimento de fluorescência antes do pulso de saturação e  $F_m'$ , a fluorescência máxima durante o pulso de saturação. O  $\Delta F/F_m'$  foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*), de acordo com Bilger et al. (1995).  $ETR = \Delta F/F_m' \times DFF \times 0,5 \times 0,84$ , em que *DFF* é a densidade de fluxo de fótons ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) incidente sobre a folha, 0,5 é o valor correspondente à fração da energia de excitação distribuída para o fotossistema II (FSII) (Laisk

& Loreto, 1996) e 0,84, o valor correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas (Ehleringer, 1981). O coeficiente de extinção não fotoquímica foi calculado como  $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$  (Bilger & Björkman, 1990). As medições foram realizadas sempre em folhas completamente expandidas, no horário entre 8:00 e 12:00, em campo.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram realizadas a análise de regressão e a comparação das médias pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando o software estatístico SISVAR (Ferreira, 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 mostra o resumo da análise de variância dos rendimentos quântico potencial ( $F_v/F_m$ ) e efetivo ( $\Delta F/F_m'$ ) do fotossistema II, coeficiente de extinção não-fotoquímica ( $NPQ$ ) e a taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ) avaliadas em folhas de plantas de feijão submetidas a diferentes períodos de supressão hídrica e aplicação de osmoprotetores à base de extratos de algas marinhas. Conforme observado, de todas as características de fluorescência da clorofila *a* avaliadas no feijoeiro, apenas o  $\Delta F/F_m'$  e a  $ETR$  foram afetadas pelo déficit hídrico. Para o  $F_v/F_m$  e o  $NPQ$  não houve efeito significativo dos períodos de supressão, tampouco do uso dos osmoprotetores.

Os valores de  $F_v/F_m$  obtidos nesta pesquisa se mantiveram abaixo da faixa de 0,75 a 0,85, considerada normal para a maioria das espécies em condições não estressantes (Björkman & Demming, 1987; Maxwell & Johnson, 2000). No entanto, como não houve diferença significativa entre as plantas de feijão irrigadas e as plantas sob déficit hídrico, os baixos valores da razão  $F_v/F_m$ , neste caso, podem estar associados a características específicas da espécie. Vale ressaltar ainda que um valor de 0,70 de  $F_v/F_m$  mostra que 70% da energia capturada estava sendo direcionada para a fotossíntese (Genty et al., 1989; Maxwell & Johnson, 2000).

A análise de regressão para o  $\Delta F/F_m'$  (Figura 1A) e a  $ETR$  (Figura 1B) mostram efeito linear decrescente, com valores mínimos obtidos aos 21 dias de supressão de irrigação. As reduções observadas no  $\Delta F/F_m'$  e na  $ETR$  foram em torno de 36% e 35%, respectivamente, quando comparadas as plantas controle. Os resultados obtidos para as variáveis de  $\Delta F/F_m'$  e  $ETR$  apontam uma redução na eficiência fotoquímica da fotossíntese das plantas de feijão sob condição de estresse. O parâmetro  $\Delta F/F_m'$  é o indicador mais sensível do estado fisiológico da planta, e reduções nos valores desta característica evidenciam limitações na etapa fotoquímica da fotossíntese (Chaves et al., 2009). Geralmente, o declínio na atividade fotoquímica está associado a diminuição da condutância estomática, ocasionada pelo fechamento parcial dos

estômatos, que restringe a entrada de CO<sub>2</sub> no mesófilo (Dias & Brüggemann, 2010; Campos et al., 2014).

## CONCLUSÕES

A aplicação dos osmoprotetores não alterou as características de fluorescência da clorofila *a* do feijoeiro cultivado sob supressão de irrigação.

O déficit hídrico promoveu declínio na eficiência fotoquímica da fotossíntese em plantas de feijão.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTI), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde (IFGoiano) pelo apoio financeiro nesta pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEEBE, S.E.; RAO, I.M.; BLAIR, M.W.; ACOSTA-GALLEGOS, J.A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, v.4, n.35, p.1-20, 2013.

BETTINI, M.O. Aplicação de extratos de algas marinhas em cafeeiro sob deficiência hídrica e estresse salino. Botucatu, 2015. 171p. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP.

BILGER, W.; BJÖRKMAN, O. Role of xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, v.25, p.173-185, 1990.

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

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, v.170, p.489-504, 1987.

CAMPOS, H.; TREJO, C.; PENÃ-VALDIVIA, C. B.; GARCÍA-NAVA, R.; CONDE-MARTÍNEZ, F. V.; CRUZ-ORTEGA, M. R. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery. *Environmental and Experimental Botany*, v.98, p.56-64, 2014.

CARVALHO, J.J.; SAAD, J.C.C.; CUNHA, F.N.; SILVA, N.F.; TEIXEIRA, M.B. Manejo da irrigação no feijoeiro, cultivado em semeadura direta e convencional. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v.8, n.1, p.52-63, 2014.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant cell. *Annals of Botany*, v.103, p.551-560, 2009.

DIAS, M.C.; BRÜGGEMANN, W. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica*, v.48, n.1, p.96-102, 2010.

EHLERINGER, J. Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia*, v.102, p.366-370, 1981.

EMBRAPA SOLOS. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3. ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

FERREIRA, D. F. SISVAR – Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

GENTY, B., BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.990, p.87-92, 1989.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO<sub>2</sub> exchange and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology*, v.110, p.903-912, 1996.

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

SHARMA, H.S.S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J.R.; MARTIN, T. Plant bioestimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stress. *Journal of Applied Phycology*, v.26, p.465-490, 2014.

TAGLIAFERRE, C.; SANTOS, T.J.; SANTOS, L.C.; SANTOS NETO, I.J.; ROCHA, F.A.; PAULA, A. de. Características agronômicas do feijão caupi inoculado em função de lâminas de irrigação e níveis de nitrogênio. *Revista Ceres*, v.60, n.2, p.242-248, 2013.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J.F.H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, v.25, p.147-150, 1990.

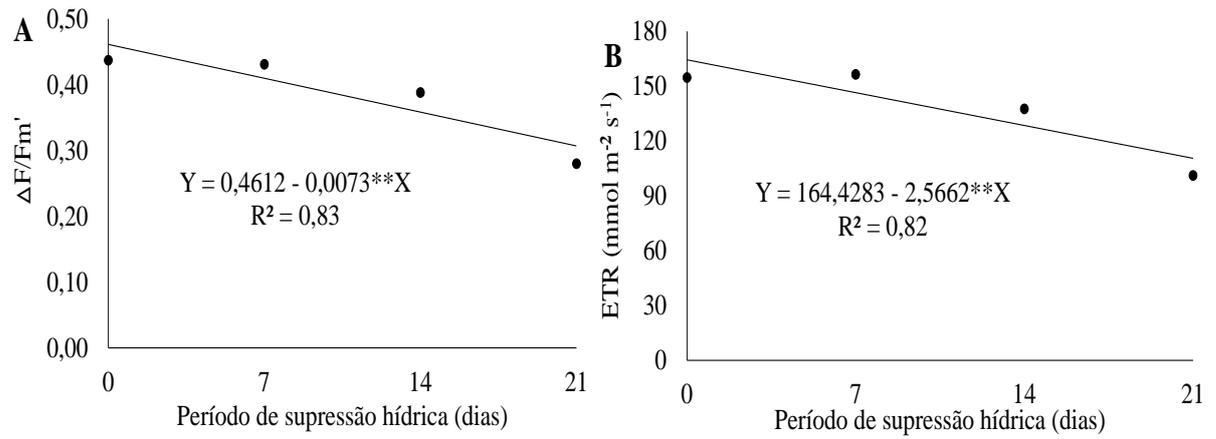
**Tabela 1.** Características químicas da camada de 0,00 a 0,20 m do solo onde o experimento foi conduzido.

Características químicas	Valores
pH (CaCl <sub>2</sub> )	6,2
P	7,06 mg dm <sup>-3</sup>
K	204 mg dm <sup>-3</sup>
Ca	5,77 cmol <sub>e</sub> dm <sup>-3</sup>
Mg	1,63 cmol <sub>e</sub> dm <sup>-3</sup>
Al	Ausente
V (%)	42
M.O.	63,42 g kg <sup>-1</sup>

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância para rendimento quântico potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ( $\Delta F/F_m'$ ), coeficiente de extinção não fotoquímica ( $NPQ$ ) e taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ) do feijoeiro, submetido a diferentes períodos de supressão hídrica e osmoprotetores à base de extratos de algas marinhas.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios			
		$F_v/F_m$	$\Delta F/F_m'$	$NPQ$	$ETR$
Período de Supressão (PS)	3	0,011 <sup>ns</sup>	0,111 <sup>**</sup>	3,31 <sup>ns</sup>	13847,51*
Bloco	2	0,119 <sup>ns</sup>	0,048 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	6026,43 <sup>ns</sup>
Resíduo (a)	6	0,030	0,010	1,32	2240,24
Osmoprotetores (O)	6	0,011 <sup>ns</sup>	0,014 <sup>ns</sup>	1,68 <sup>ns</sup>	2152,21 <sup>ns</sup>
Interação PS x O	18	0,006 <sup>ns</sup>	0,007 <sup>ns</sup>	1,44 <sup>ns</sup>	1000,63 <sup>ns</sup>
Resíduo (b)	48	0,009	0,009	1,14	1092,94
CV (a)		24,41	26,07	98,44	34,43
CV (b)		13,35	25,37	91,37	24,05
Médias					
Período de Supressão					
0 dias		0,70	0,44	1,15	155
7 dias		0,72	0,43	0,76	157
14 dias		0,68	0,39	1,04	138
21 dias		0,73	0,28	1,71	101
Osmoprotetores					
EA/GB/KPM/AS		0,74	0,41	0,87	149
EA/GB/KPM		0,71	0,38	1,14	136
EA/AS/KPM		0,72	0,40	0,92	147
EA/KPM		0,70	0,34	1,30	124
EA/GB		0,74	0,42	0,92	151
EA		0,65	0,32	1,94	115
Nenhum		0,70	0,39	1,05	140

\*; \*\* significativo a 5 e 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. GL – grau de liberdade; CV – coeficiente de variação. <sup>1</sup> Dados transformados em raiz de X. EA/GB/KPM/AS; EA/GB/KPM; EA/AS/KPM; EA/KPM; EA/GB; EA; Nenhum (Testemunha).



**Figura 1.** Rendimento quântico efetivo do fotossistema II ( $\Delta F/F_m'$ ) (A) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (B) do feijoeiro em função dos períodos de supressão hídrica.