

USO DE ^{32}P NOS TESTES DE SENSIBILIDADE DO FEIJOEIRO AO ALUMÍNIO¹

ITAMAR PEREIRA DE OLIVEIRA² e EURÍPEDES MALAVOLTA³

RESUMO - Foram conduzidos quatro ensaios em casa de vegetação visando verificar a viabilidade de utilização de ^{32}P nos testes de tolerância ao alumínio pelo feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). As cultivares foram classificadas previamente, de acordo com os dados de produção de matéria seca, através de análises de regressão como tolerantes (C₂₀ - Mulatinho Paulista, C₂₆ - Ricobaio 1014 e C₃₃ - Roxo 750) e sensíveis ao alumínio (C₁₃ - Jamapa, C₂₈ - Rio Tibagi e C₃₄ - Tambó). Raízes provenientes de plantas cultivadas em soluções nutritivas completas durante trinta dias e submersas em outra solução contendo alumínio mostrou ser um indicador confiável da eficiência de absorção de ^{32}P das cultivares tolerantes e sensíveis ao alumínio. A taxa de absorção de ^{32}P foi maior nas cultivares tolerantes que nas sensíveis. Esses resultados mostram que as cultivares tolerantes ao alumínio podem absorver fósforo com maior eficiência que as sensíveis. A concentração iônica externa (NaH_2PO_4) aumentou a absorção de ^{32}P na presença de 48 ppm de alumínio.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris* L., cultivares tolerantes e sensíveis.

USE OF ^{32}P IN ALUMINUM SENSIBILITY TESTS WITH BEAN

ABSTRACT - Four greenhouse experiments were conducted to study the possibility of using ^{32}P in aluminum tolerance tests of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The cultivars were previously classified according to dry matter yield data by regression analysis as aluminum tolerant (C₂₀ - Mulatinho Paulista; C₂₆ - Ricobaio 1014; and C₃₃ - Roxo 750) and aluminum sensitive (C₁₃ - Jamapa; C₂₈ - Rio Tibagi; and C₃₄ - Tambó). Chopped roots from plant grown in a complete nutrient solution during thirty days and submerged in another solution containing aluminum showed to be a reliable indicator of ^{32}P absorption efficiency to aluminum tolerant and sensitive cultivars. Rate of ^{32}P uptake was more in aluminum tolerant cultivars than sensitive ones. These results are showing that aluminum tolerant cultivars can absorb phosphorus more efficiently than sensitive ones. External ionic concentration (NaH_2PO_4) increased ^{32}P absorption in presence of 48 ppm of aluminum.

Index terms: *Phaseolus vulgaris* L., tolerant and sensitive cultivars.

INTRODUÇÃO

A escolha de um teste para definir plantas nos grupos tolerantes e sensíveis, com base na absorção e nutrição, deve ser fundamentada na sensibilidade das plantas e, ao mesmo tempo, apresentar uma boa relação entre o crescimento da planta e a sua capacidade de absorção.

Vários são os métodos propostos pelos pesquisadores de diferentes áreas para conhecer a tolerância das plantas aos meios adversos à cultura. Conhecem-se, atualmente, os ensaios de campo em que se relacionam áreas com diferentes níveis de elemento nocivo ao desenvolvimento da planta e

os ensaios em solução nutritiva com diferentes níveis dos elementos em estudo.

Os métodos que utilizam o solo diretamente, apresentam o inconveniente de não poder isolar o efeito de determinado fator por causa da complexidade da dinâmica do meio. O efeito dos elementos não marcados, muitas vezes, não consegue ser detectado, em virtude da baixa precisão da maioria das análises de laboratório.

Em trabalhos realizados com ^{32}P em milho, por Robertson (1951), foi verificado que os híbridos com maior sistema radicular absorvem mais fósforo e que, em todas as plantas, as maiores concentrações de fosfato estavam nas regiões de grande atividade metabólica. Biddulph (1940), estudando a absorção e o movimento de radioisótopo de fósforo em plântulas de feijoeiro, observou que o movimento do fósforo é muito rápido e segue a corrente transpiratória, acumulando-se nas folhas do ápice. Além disso, verificou que o fósforo total associado com as raízes foi duas vezes maior que a

¹ Aceito para publicação em 25 de outubro de 1982.

² Eng.^o Agr.^o, Ph.D., Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) - EMBRAPA, Caixa Postal 179, CEP 74000 - Goiânia, GO.

³ Eng.^o Agr.^o, Ph.D., Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), Caixa Postal 96, CEP 13400 - Piracicaba, SP.

concentração da solução antes que apreciáveis quantidades entrassem na parte aérea.

Adriano et al. (1972) e Bar-Yosef (1971) encontraram uma relação entre o aumento da concentração de fósforo na solução externa e o aumento na absorção de fósforo pelas raízes, enquanto que Wittwer & Teubner (1959) verificaram que plantas deficientes em fósforo absorvem ^{32}P aplicado mais rapidamente que aquelas crescidas em meio rico em fósforo.

Biddulph et al. (1958) concluíram que o fósforo se desloca rapidamente, quando realizaram experimentos com raízes de feijão, intactas, mantidas em soluções contendo cálcio, fósforo e sulfato radioativos, por uma hora, quando estas soluções são substituídas por outras não-radioativas. Verificaram, ainda que o fosfato foi levado ao caule e às folhas, migrando novamente para as raízes.

A finalidade deste ensaio foi verificar se a absorção do fósforo marcado pelas raízes tem alguma relação com os grupos de tolerância ao alumínio previamente definido pelo peso total de matéria seca.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foram testadas 40 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) oriundas do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP/EMBRAPA) e Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/ESALQ) em solução nutritiva contendo 0, 6, 12, 18 e 24 ppm de alumínio.

As sementes foram germinadas em vermiculita umedecida com $\text{CaSO}_4 \cdot 10^{-4}$ M, tendo as plântulas permanecido neste meio até o quinto dia após a emergência.

Em seguida, as plantas ou mudas foram transferidas para a solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon com pH em torno de 5,0, modificada em relação ao potássio (KH_2PO_4 0,5 m). O ferro foi fornecido, utilizando-se o Fe-EDTA (etileno diamino acetato dissódico de ferro), segundo Malavolta (1976).

A cultura permaneceu em solução, durante trinta dias, com arejamento permanente. As plantas foram colhidas e lavadas uma vez em água de torneira e três vezes em água destilada, sendo acondicionadas em sacos perfurados de papel e secadas em estufa, à temperatura entre 70-80°C, por um período de doze horas.

O delineamento utilizado foi blocos ao acaso, com quatro repetições, considerando uma planta por repetição.

Os dados de produção de matéria seca total foram submetidos à análise de variância e à análise de regressão. Fo-

ram classificadas como tolerantes aquelas que apresentaram valores máximos de produção de matéria seca total e sensíveis aquelas que apresentaram mínimos. O critério de McLean & Gilbert (1927) foi seguido, com algumas modificações, permitindo, deste modo, fazer o agrupamento das cultivares em faixa de tolerância, dentro dos níveis estudados. Dentro de cada grupo, foram selecionadas três cultivares tolerantes e três sensíveis, mais representativas em relação ao comportamento da planta na presença do alumínio.

Foram realizadas análises de fósforo da parte aérea e raiz no Laboratório de Nutrição de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por colorimetria segundo Reis et al. (1978), em sistemas de injeção de fluxo contínuo segmentado.

Foram consideradas tolerantes aquelas que apresentaram máximos de produção (C_{20} - 'Mulatinho Paulista'; - 'Ricobaio 1014' e C_{33} - 'Roxo 750') e sensíveis aquelas que apresentaram mínimos de produção (C_{17} - 'Jamapa', C_{25} - 'Rio Tibagi' e C_{34} - 'Tambó').

Determinados os graus de tolerância, o segundo ensaio foi realizado em solução nutritiva com pH em torno de 5, contendo 0, 12 e 24 ppm de alumínio, deixando as plantas neste meio, por um período de trinta dias. Após este período, plantas inteiras e raízes destacadas foram submetidas a tratamentos ^{32}P , na concentração de 2,5 $\mu\text{Ci/ml}$ de $\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$ e 1 ml de $\text{MgSO}_4 \times 10^{-2}\text{M}$, por um período de duas horas.

Após as lavagens, as plantas foram submetidas à secagem, moagem manual e contagem no escalímetro Nuclear Chicago Corp., modelo 181 B, com tubo Geiger Müller de janela fina, convertida em cpm/grama de matéria seca.

As contagens médias foram provenientes de quatro repetições, considerando uma planta por repetição. As plantas inteiras, após a secagem, foram separadas em parte aérea e raiz e obtida a concentração de ^{32}P em cada parte independentemente.

A interpretação dos resultados foi realizada através das observações das tendências das curvas das médias das contagens por minuto, por grama de matéria seca (cpm/grama).

O terceiro ensaio foi realizado com as seis cultivares testadas, acompanhando o mesmo esquema básico, contudo realizando algumas modificações, conforme a necessidade do teste. As plantas de feijão foram cultivadas, por um mês, em solução nutritiva com pH em torno de 5,0 livre de alumínio. Após este período, retirou-se a solução nutritiva e adicionaram-se alumínio (0, 12, 24 e 72 ppm) e ^{32}P (2,5 $\mu\text{Ci/ml}$) em água corrigindo o pH para 5,0, permanecendo neste meio por duas horas.

O quarto ensaio utilizou apenas duas cultivares tolerantes (C_{20} - 'Mulatinho Paulista' e C_{26} - 'Ricobaio 1014') e uma sensível (C_{28} - 'Rio Tibagi'). Este ensaio seguiu o mesmo esquema básico, variando apenas os tratamentos contendo fósforo não marcado (10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-3} e 10^{-1}M de NaH_2PO_4), usado como fonte externa, acrescidos de 48 ppm de alumínio em pH em torno de 5,0, com base

nos resultados dos dois ensaios realizados anteriormente. Este ensaio foi realizado com a finalidade de usar o fósforo não marcado na solução externa, baseado no princípio que a presença de íons na solução externa constitui um processo que facilita a absorção de nutrientes pelo maior contato com as raízes, podendo, deste modo, destacar e confirmar os resultados obtidos no agrupamento das cultivares em tolerantes e sensíveis no terceiro ensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de produção total de matéria (parte aérea + raiz) seca constituíram a base da seleção de cultivares tolerantes e sensíveis (Tabelas 1 e 2). A análise de variância indicou a variação entre os tratamentos, e as análises de regressão possibilitaram agrupar as cultivares em tolerantes e sensíveis (Tabela 2).

Os resultados obtidos mostraram, em certas cultivares, que o feijão teve a produção de matéria seca aumentada na presença do alumínio. Magistad (1925) acredita que pequenas quantidades de alumínio, de modo geral, são benéficas às plantas, graças a um efeito catalítico desse elemento no processo de fotossíntese. Quanto à diferença no comportamento das cultivares, pode ser atribuída ao grau de permeabilidade da membrana celular, que permite ou dificulta a entrada do alumínio na planta. A entrada do alumínio provoca coagulação de proteínas e cria diferentes condições para os cátions presentes, permitindo saída rápida de cálcio, potássio e outros cátions da célula.

Foi verificado, de modo geral (Tabela 3), que, ao aumentar o teor de alumínio dos tratamentos,

houve uma redução nos teores de fósforo da parte aérea; contudo, na raiz (Tabela 4), foi verificada alguma variação nos resultados, o que concorda com Ruschel et al. (1968) em trabalhos com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

Não foi possível verificar variações nos teores de fósforo entre grupos de cultivares tolerantes e sensíveis. Dentro de ambos os grupos, houve cultivares com teores variáveis, não se podendo, deste modo, verificar alguma tendência no teor de fósforo total absorvido. Trabalhos de Andrew et al. (1973), com diversas leguminosas, verificaram algumas variações comuns nas concentrações de fósforo, mas concluíram que não podem ser consideradas constantes para um certo grupo de cultivares.

TABELA 2. Relação de cultivares e doses de alumínio que permitiram encontrar os valores máximos ou mínimos de produção de matéria seca total.

Cultivares	Doses de alumínio		R
	Tolerantes máximos	Sensíveis mínimos	
	ppm de Al		
C ₂₀	14	-	0,792**
C ₂₆	14	-	0,798**
C ₃₃	15	-	0,759**
C ₁₇	-	15	0,858**
C ₂₈	-	9	0,877**
C ₃₄	-	2	0,854**

TABELA 1. Peso médio de quatro repetições, em gramas, das cultivares selecionadas, cultivadas em solução nutritiva.

Tratamentos Al em ppm	Tolerantes			\bar{X}	Sensíveis			\bar{X}
	C ₂₀	C ₂₆	C ₃₃		C ₁₇	C ₂₈	C ₃₄	
	Peso total de matéria seca							
0	0,700	0,913	0,860	0,824	1,245	0,962	0,925	1,044
6	0,865	0,910	0,920	0,898	0,782	0,843	0,555	0,727
12	0,632	1,090	0,770	0,830	0,753	0,627	0,348	0,576
18	0,842	0,902	0,822	0,855	0,837	0,850	0,452	0,713
24	0,742	0,697	0,698	0,712	0,833	0,865	0,490	0,729
\bar{X}	0,756	0,902	0,814	0,824	0,890	0,829	0,554	0,757
C.V. %	4,850	4,200	4,570	-	4,410	3,960	14,660	-
DMS 1%	0,061	0,066	0,064	-	0,068	0,060	0,122	-

TABELA 3. Teores médios de fósforo, em percentagem, de quatro repetições das partes aéreas das cultivares selecionadas, em relação ao alumínio.

Tratamentos Al em ppm	Tolerantes			\bar{X}	C ₁₇	Sensíveis		\bar{X}
	C ₂₀	C ₂₆	C ₃₃			C ₂₈	C ₃₄	
	% P							
0	0,650	1,090	0,860	0,867	0,540	1,460	1,070	1,023
6	0,660	1,320	0,600	0,860	0,420	1,150	0,710	0,760
12	0,960	1,290	0,480	0,910	0,420	1,140	0,560	0,707
18	0,640	0,540	0,440	0,540	0,420	1,140	0,520	0,693
24	0,650	1,340	0,410	0,800	0,360	1,140	0,470	0,657
\bar{X}	0,712	1,116	0,558	0,795	0,432	1,206	0,666	0,768

TABELA 4. Teores médios de fósforo, em percentagem, de quatro repetições das raízes das cultivares selecionadas, em relação ao alumínio.

Tratamentos Al em ppm	Tolerantes			\bar{X}	C ₁₇	Sensíveis		\bar{X}
	C ₂₀	C ₂₆	C ₃₃			C ₂₈	C ₃₄	
	% P							
0	0,950	1,490	1,010	1,150	0,600	1,380	1,000	0,993
6	1,780	1,870	0,950	1,533	1,380	1,800	1,190	1,457
12	1,580	2,600	1,480	2,887	2,740	2,200	1,630	2,190
18	1,800	3,280	2,890	2,657	2,850	2,160	2,000	2,337
24	1,870	3,150	1,960	2,327	2,100	2,920	1,120	2,047
\bar{X}	1,596	3,150	1,658	1,911	1,934	2,092	1,382	1,805

A absorção de ^{32}P foi obtida quando as plantas foram cultivadas, durante 30 dias, em solução nutritiva contendo alumínio nos níveis 0, 12, e 24 ppm (Fig. 1, 2 e 3). A absorção de ^{32}P pelas plantas, mostrada pelas partes aéreas e raízes destacadas, foi prejudicada pela ação do alumínio nas raízes em crescimento. Estas se apresentavam, após o período de desenvolvimento, bastante danificadas, não sendo possível verificar diferenças de absorção entre as cultivares tolerantes e sensíveis.

Problemas da absorção de fósforo, em geral, e do desenvolvimento são comentados por Magistad (1925); esse elemento é adsorvido e precipita-se na superfície das raízes, tornando-as impermeáveis aos elementos das soluções nutritivas. As plantas, ao serem retiradas da solução contendo alumínio, possivelmente, apresentem deficiências de fósforo e cálcio, segundo trabalhos de Ruschel et al. (1968), Foy et al. (1970) e Nogueira (1979). As plantas, neste ensaio, ao serem submetidas aos tra-

tamentos de ^{32}P , apresentavam-se deficientes deste elemento, e a absorção foi feita, de maneira uniforme, por todas as cultivares até compensar o estado de subnutrição.

No terceiro experimento, as plantas foram cultivadas em solução nº 2 de Hoagland & Arnon, pH em torno de 5,0 e submetidas a tratamentos contendo ^{32}P e alumínio, no período de duas horas (Fig. 4, 5 e 6).

As plantas estudadas, integralmente e em partes, não mostraram diferenças de absorção de ^{32}P entre cultivares. As raízes destacadas (Fig. 6) e submetidas às soluções contendo ^{32}P evidenciaram o efeito do alumínio na absorção de fósforo pelas cultivares tolerantes, em relação às sensíveis. As cultivares tolerantes mostraram maior taxa de absorção de ^{32}P pelas raízes que as sensíveis. Para Crocomo et al. (1965), as raízes destacadas não são influenciadas pelos processos biológicos que ocorrem na parte aérea, podendo enfocar melhor

o fenômeno de transporte e acumulação de íons.

O estudo do efeito da concentração iônica externa, NaH_2PO_4 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-3} e 10^{-1}M , na absorção de ^{32}P (Fig. 7, 8 e 9), mostrou resulta-

dos concordantes com os obtidos com raízes destacadas, provenientes de plantas cultivadas em solução livre de alumínio, mostrando apenas uma maior sensibilidade na absorção. Esse maior efeito

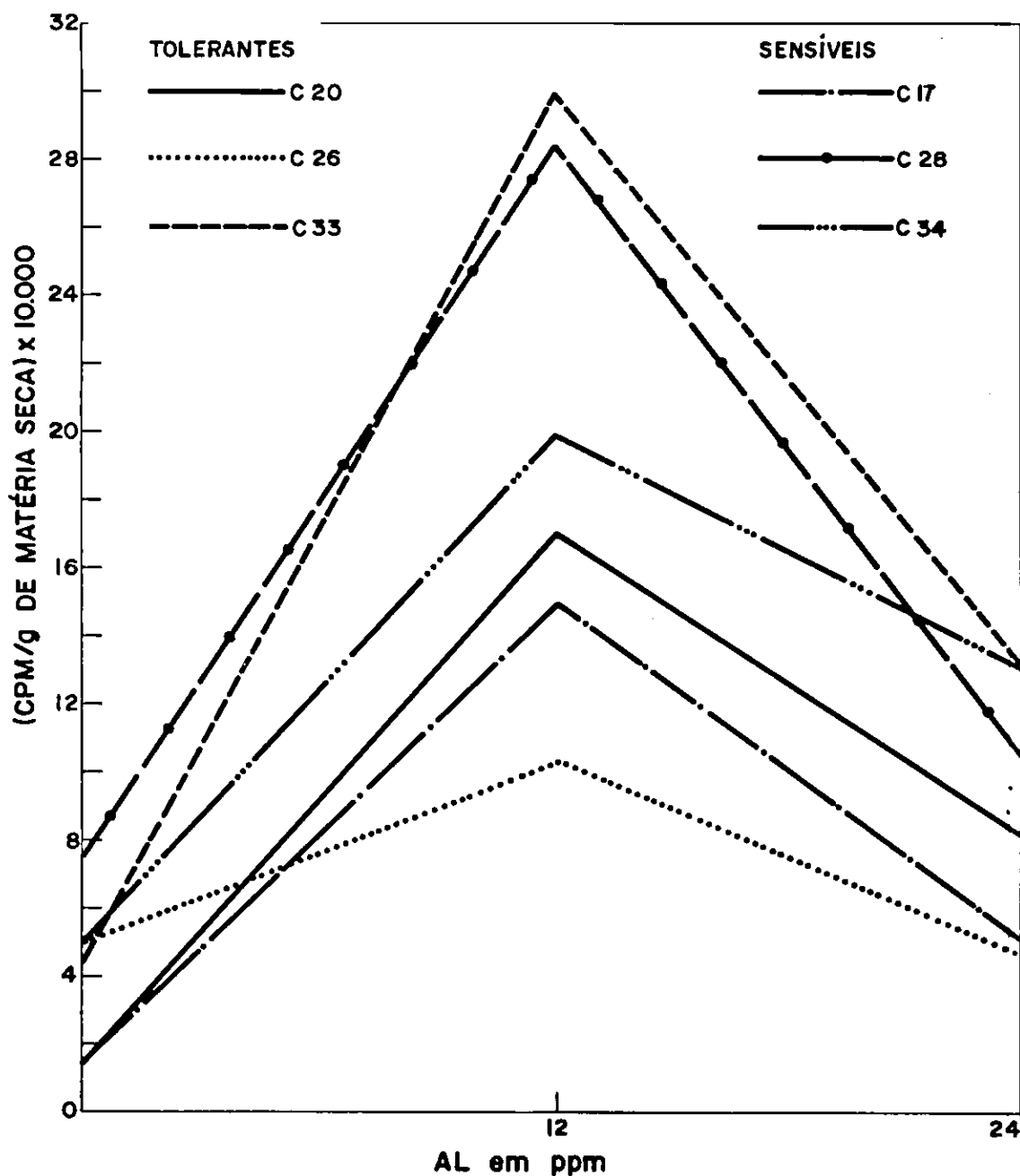


FIG. 1. Relação da absorção de ^{32}P pela parte aérea do feijão cultivado em solução de alumínio durante um mês.

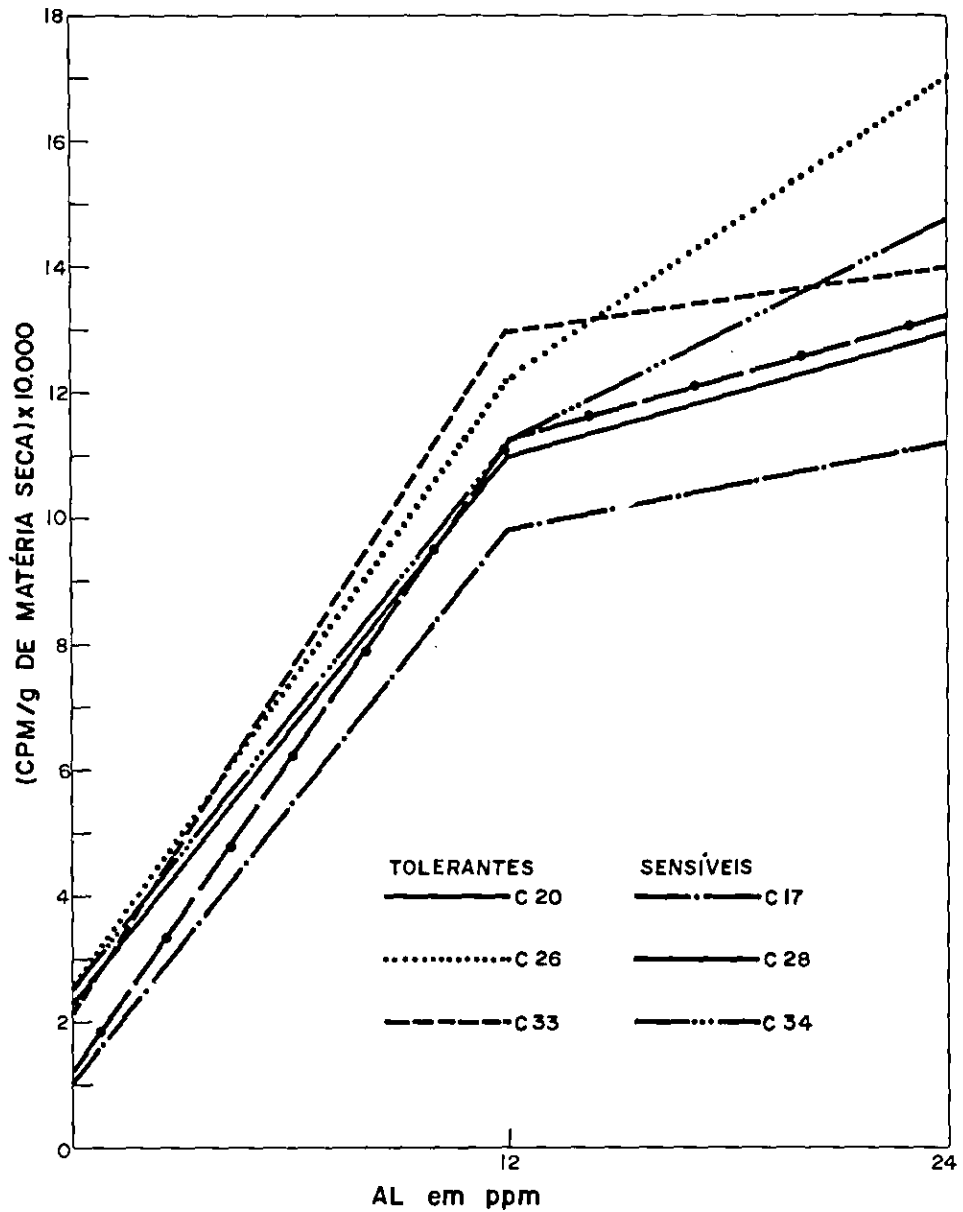


FIG. 2. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz não destacada de feijão cultivado em solução de alumínio durante um mês.

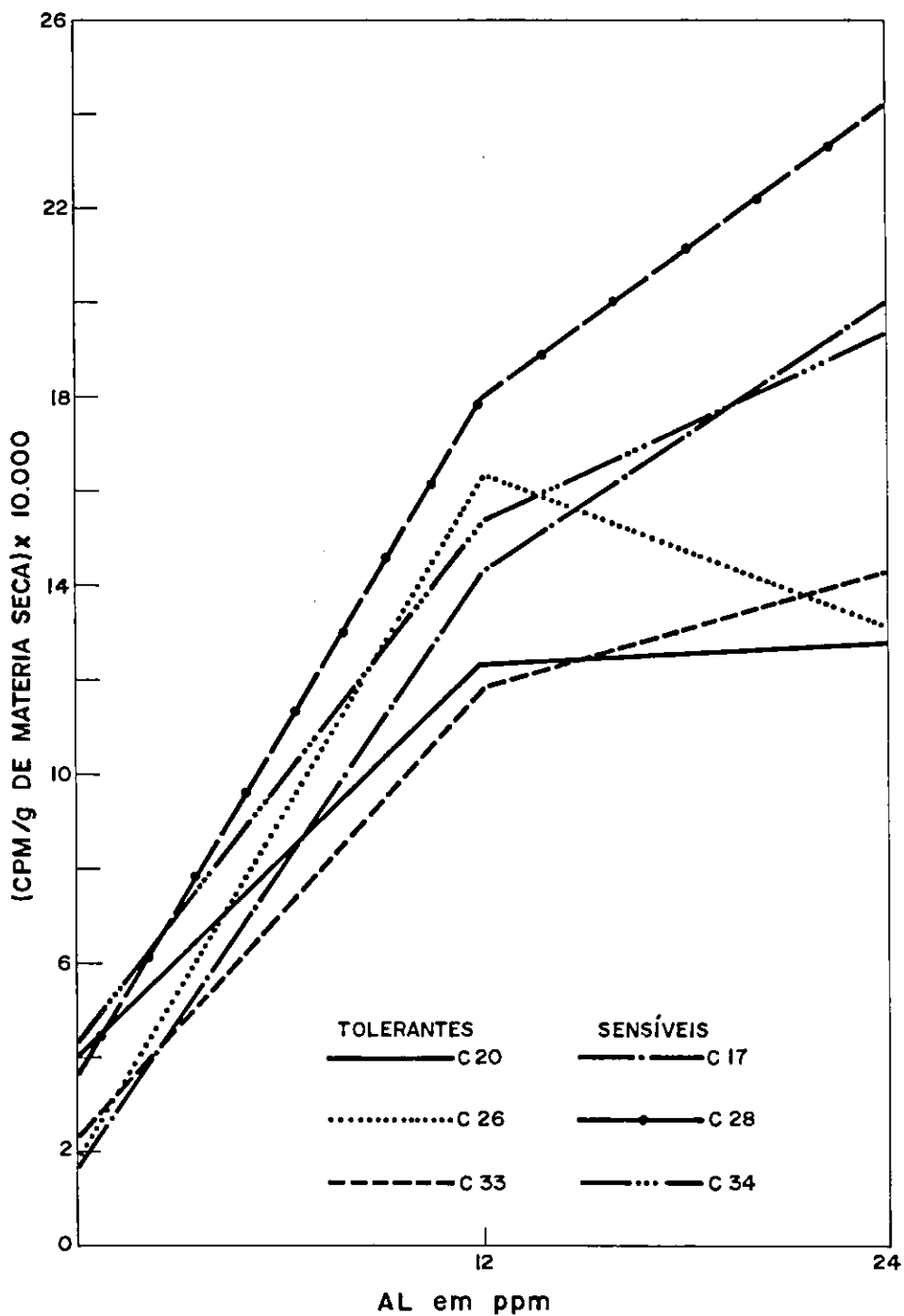


FIG. 3. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz destacada de feijão cultivado em solução de alumínio durante um mês.

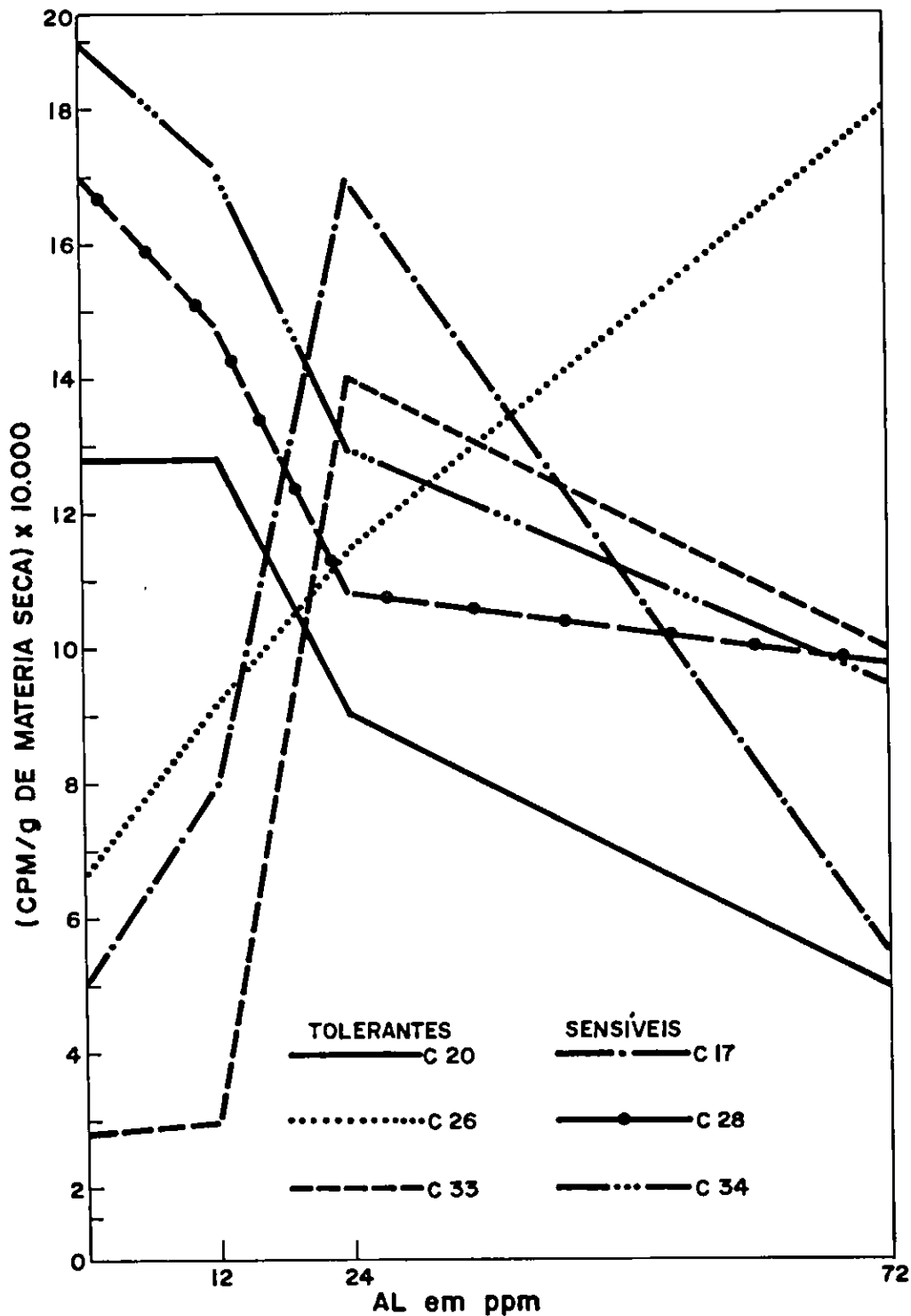


FIG. 4. Relação da absorção de ^{32}P pela parte aérea do feijão cultivado em solução de alumínio durante duas horas.

pode ser explicado pela maior concentração de íons presentes na solução e pelo maior contato destes com a raiz da planta. Observações realizadas por Broyer (1956), em trabalhos de absorção de nutrientes, levaram-no a concluir que o aumento da concentração externa aumenta a absorção desde que as condições sejam favoráveis ao metabolismo da planta.

Considerando-se os resultados gerais, pode-se re-

lacionar a tolerância do feijoeiro ao alumínio com a sua capacidade em absorver o fósforo em condições não favoráveis à absorção.

As cultivares tolerantes apresentaram maior taxa de absorção mesmo na presença do alumínio, o que leva a crer em um possível mecanismo enzimático mais eficiente na absorção de fósforo mesmo em condições adversas ao desenvolvimento normal da planta.

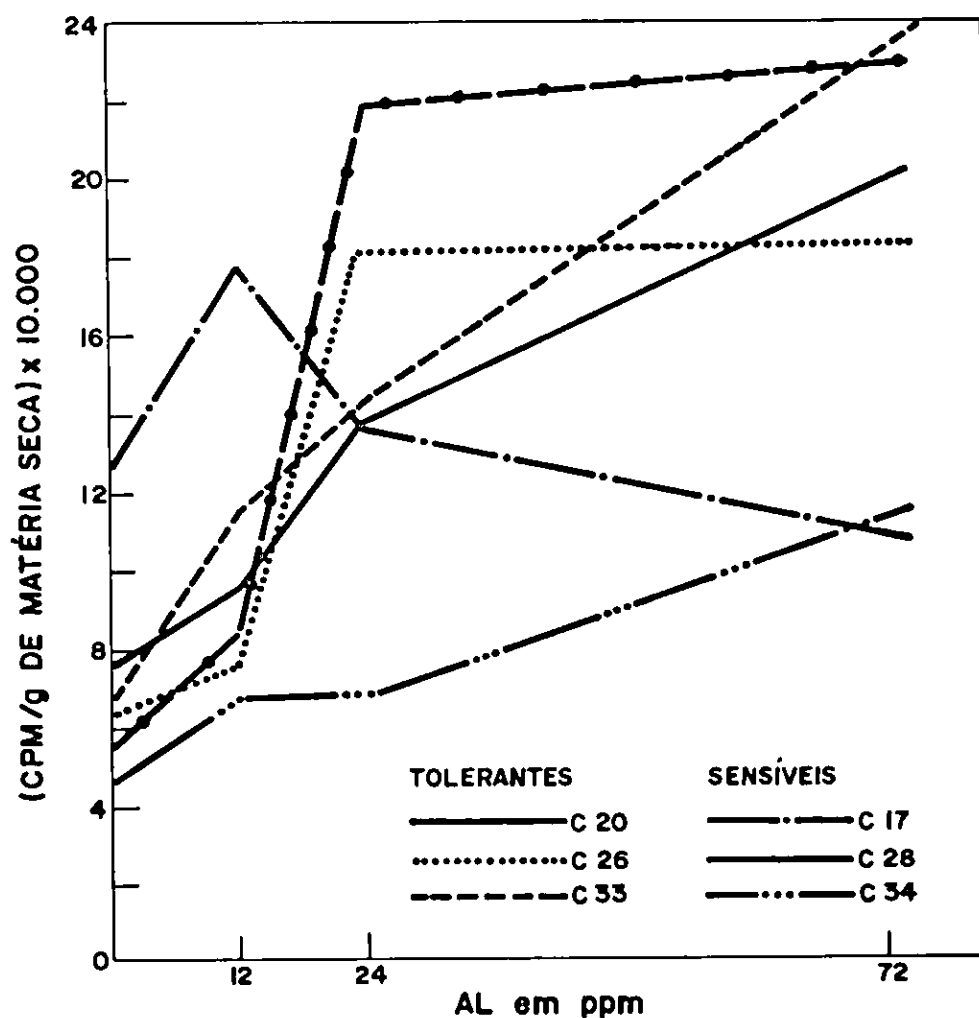


FIG. 5. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz não destacada de feijão cultivado em solução de alumínio durante duas horas.

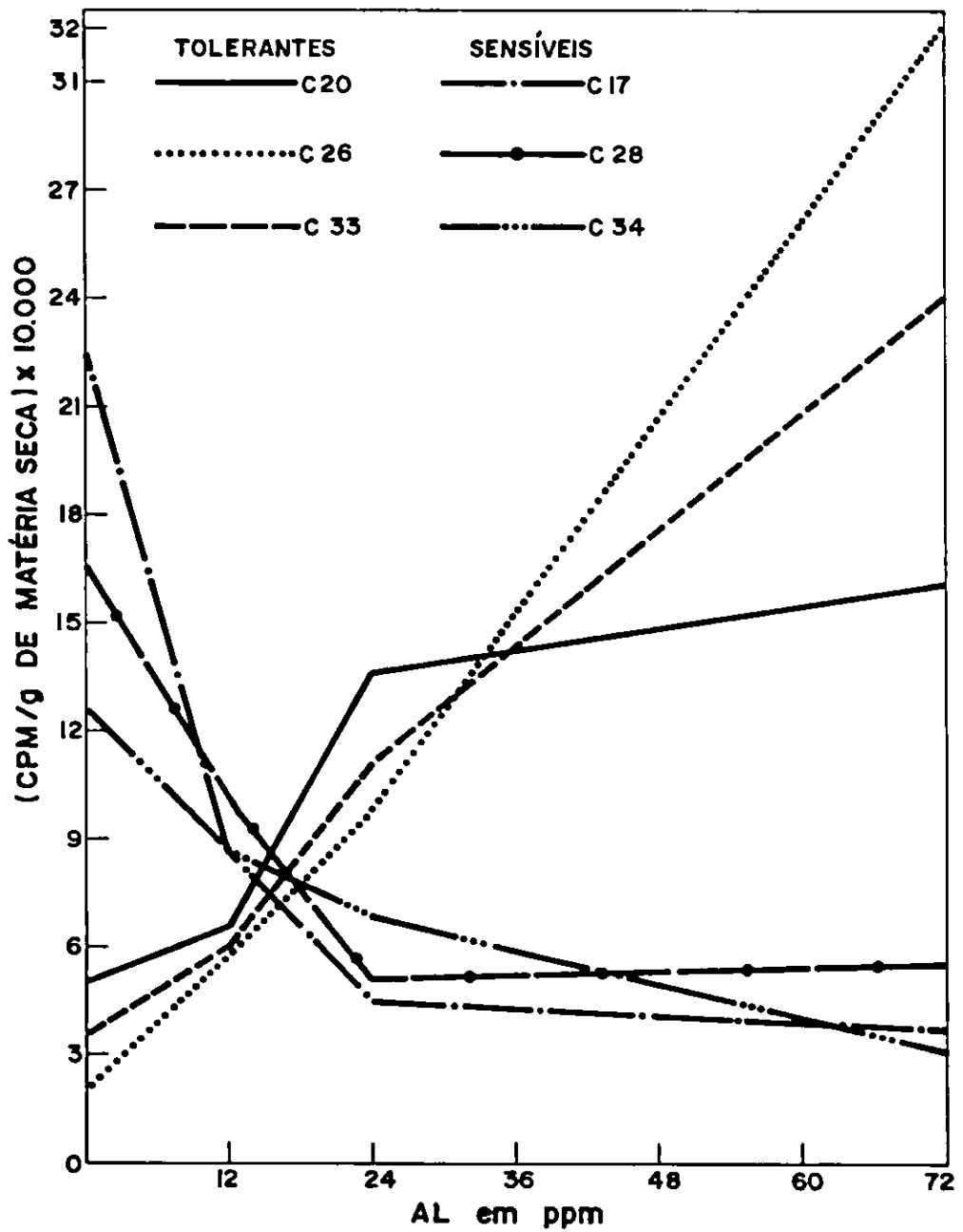
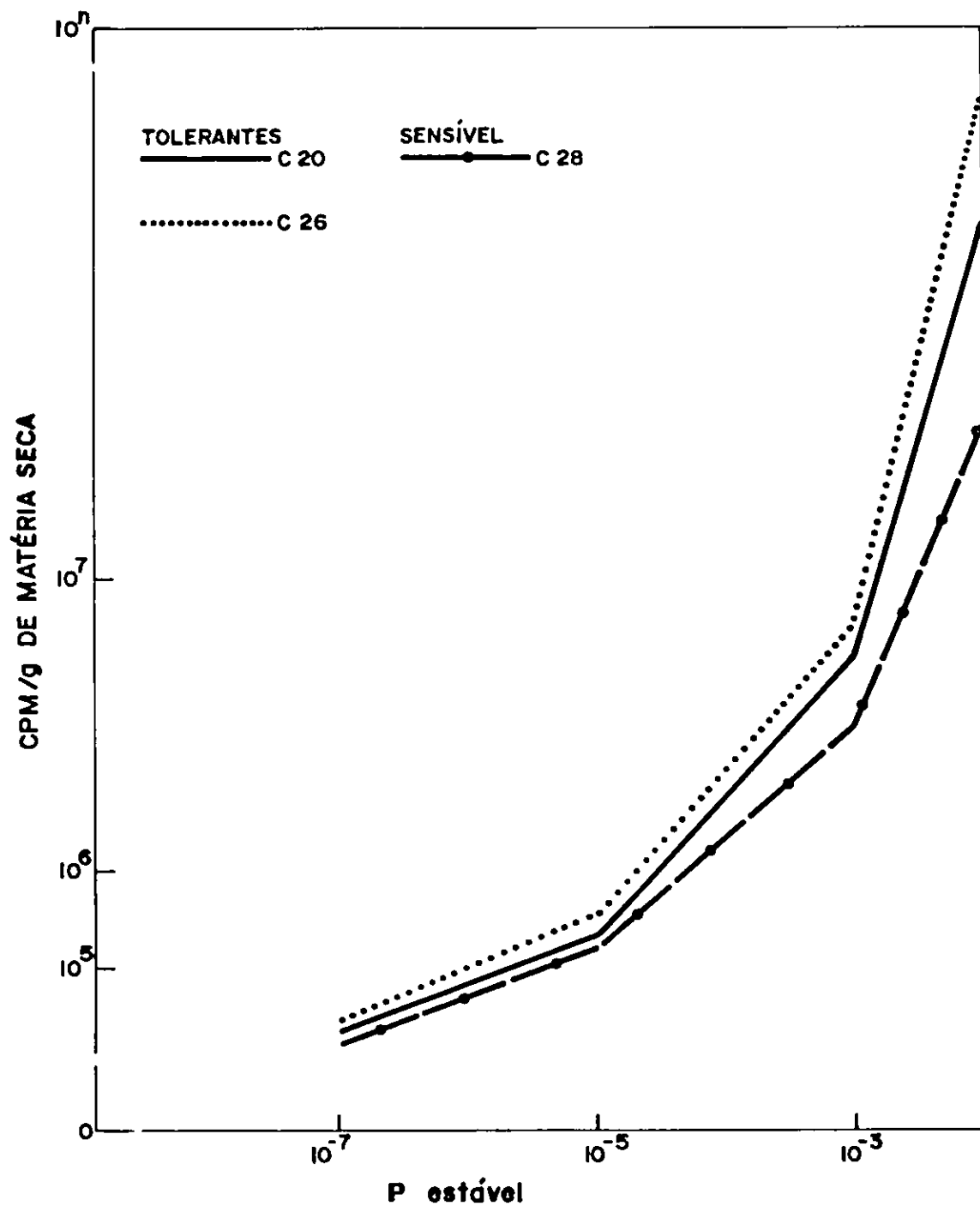


FIG. 6. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz destacada de feijão cultivado em solução de alumínio durante duas horas.

FIG. 7. Relação da absorção de ^{32}P pela parte aérea de feijão na presença de fósforo estável.

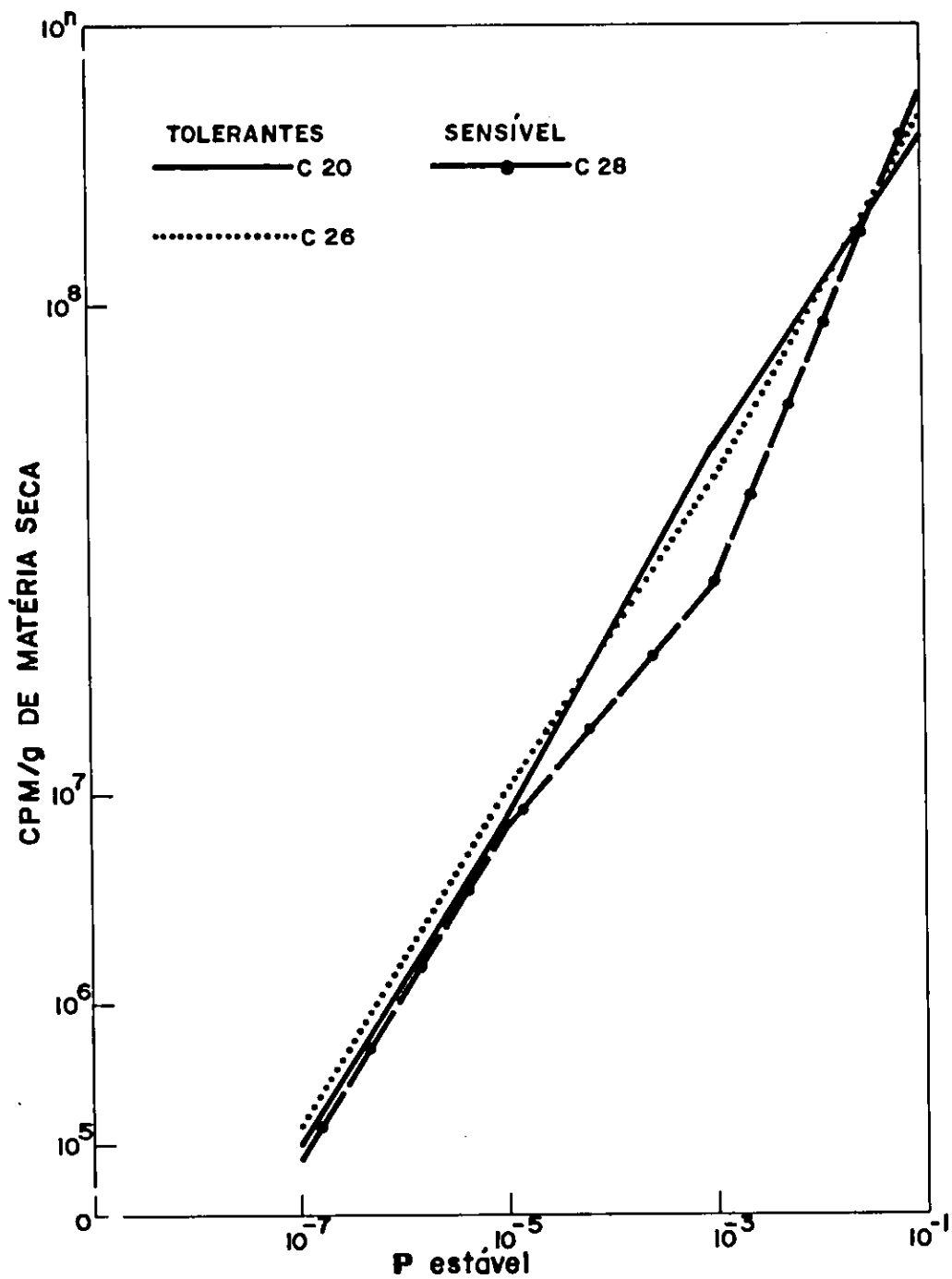
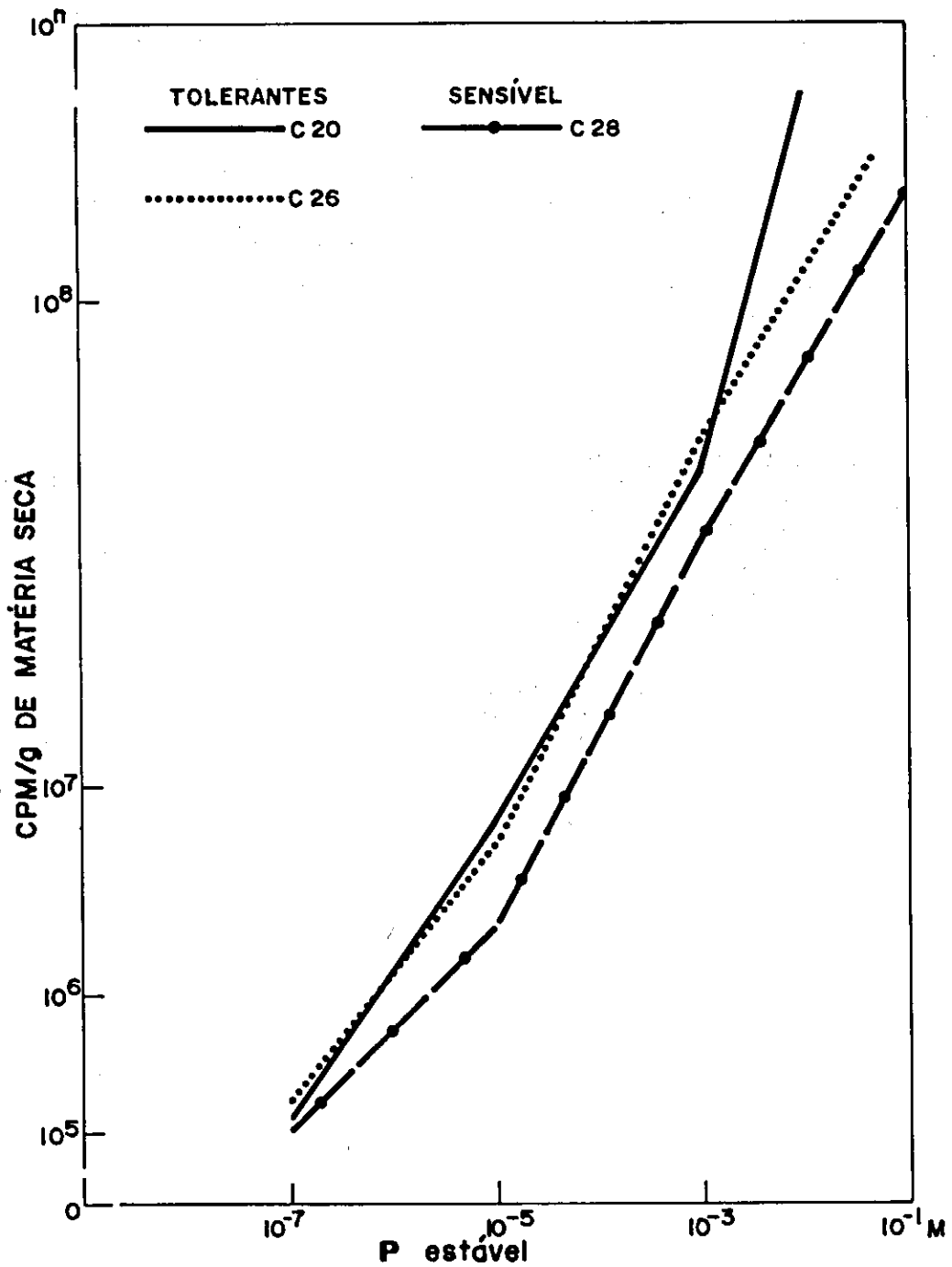


FIG. 8. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz não destacada de feijão na presença de fósforo estável.

FIG. 9. Relação da absorção de ^{32}P pela raiz destacada de feijão na presença de fósforo estável.

CONCLUSÕES

1. Ensaios com ^{32}P em raiz destacada na presença do alumínio, por um período de duas horas, mostraram-se eficientes, qualitativamente, para agrupar cultivares sensíveis e tolerantes.

2. A presença de íons na concentração iônica externa apresentou maior sensibilidade na absorção de ^{32}P , na presença do alumínio, comprovando a eficiência deste teste no agrupamento de cultivares.

3. As cultivares tolerantes apresentaram maior taxa de absorção de ^{32}P que as sensíveis, indicando uma relação entre tolerância ao alumínio e capacidade de absorção de fósforo pelas plantas.

REFERÊNCIAS

- ADRIANO, D.C.; PAULSEN, E.M. & MURPHY, S. Analysis of responses curves to increased P concentration in intact (rice and groundnut) plants. In: ISOTOPES S relation in soil plant relationship including forestry. Viena, IAEA, 1972. p.87-94.
- ANDREW, C.S.; JOHNSON, A.D. & SANDLAND, R.L. Effect of aluminium on the growth and chemical composition of some tropical and temperature pasture legumes. *Aust. J. Agric. Res.*, 24(3):325-9, 1973.
- BAR-YOSEF, B. Fluxes of P and Ca into intact corn roots and their dependence on solution concentration and root age. *Plant Soil*, 35:589-602, 1971.
- BIDDULPH, O. Absorption and movement of radio-phosphorus in bean seedling. *Plant Physiol.*, 15: 131-6, 1940.
- BIDDULPH, O.; BIDDULPH, S.F.; CORY, K. & KOONTZ, H. Circulation pattern of ^{32}P , ^{32}S , and ^{45}Ca in bean plant. *Plant Physiol.*, 33:293-305, 1958.
- BROYER, T.C. Current news on solute movement in plant roots. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 67:570-86, 1956.
- CROCOMO, O.J.; NEPTUNE, A.M.L. & ZUMETA, H.R. Absorción de iones por las plantas. Venezuela, Universidad de Zulia - Faculdade de Agronomia Maracaibo, 1965. 188p.
- FOY, C.D.; FLEMING, A.L. & GERLOFF, G.C. Differential aluminum tolerance in two snapbean varieties. *Agron. J.*, 64:815-8, 1970.
- MAGISTAD, O.C. The aluminum content of the soil solution and its relation to soil reaction and plant growth. *Soil Sci.*, 20:181-212, 1925.
- MALAVOLTA, E. Práticas de nutrição mineral de plantas. Piracicaba, USP-ESALQ, 1976. 65p.
- MCLEAN, F.T. & GILBERT. The relative aluminium tolerance of crop plants. *Soil Sci.*, 24:163-75, 1927.
- NOGUEIRA, F.D. Efeitos do alumínio no sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L. Moench). Piracicaba, USP/ESALQ, 1979.120p. Tese Doutorado.
- REIS, B.F.; BERGMAN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.G. & KRUG, F.J. Merging zones in flow infection analysis. Part III. Spectrophotometric determination of aluminium in plant and soil material with sequential addition of pulsed reagents. *Anal. Chim. Acta*, 97: 427-35, 1978.
- ROBERTSON, R.N. Mecanism of absorption and transport of inorganic nutrients in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 2:1-24, 1951.
- RUSCHEL, A.P.; ALVAYDO, R. & SAMPAIO, I.B.M. Influência do excesso de alumínio no feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em solução nutritiva. *Pesq. agropec. bras.*, 3:229-33, 1968.
- WITTWER, S.H. & TEUBNER, F.G. Foliar absorption of mineral nutrients. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 10: 13-22, 1959.