



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LETÍCIA ELISIANE BELUZZO

**NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA LIBERADORAS DE  
ÓXIDO NÍTRICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE  
FEIJÃO SOB ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO  
E ALUMÍNIO**

---

Londrina  
2024

LETÍCIA ELISIANE BELUZZO

**NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA LIBERADORAS DE  
ÓXIDO NÍTRICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE  
FEIJÃO SOB ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO  
E ALUMÍNIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Inês Cristina de Batista Fonseca.

Coorientador: Prof. Dr. André Sampaio Ferreira.

Londrina  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Beluzzo, Leticia Elisiane .

NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA LIBERADORAS DE ÓXIDO NÍTRICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO SOB ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO E ALUMÍNIO / Leticia Elisiane Beluzzo. - Londrina, 2024. 68 f. : il.

Orientador: Inês Cristina de Batista Fonseca.

Coorientador: André Sampaio Ferreira.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2024.

Inclui bibliografia.

1. nanotecnologia - Tese. 2. Phaseolus vulgaris L. - Tese. 3. estresse abiótico - Tese. 4. germinação - Tese. I. Fonseca, Inês Cristina de Batista . II. Ferreira, André Sampaio . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

LETÍCIA ELISIANE BELUZZO

**NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA LIBERADORAS DE  
ÓXIDO NÍTRICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE  
FEIJÃO SOB ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO  
E ALUMÍNIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. André Sampaio Ferreira  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carolina Maria Gaspar de Oliveira  
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná -  
IDR-PR

---

Prof. Dr. Diego Genuário Gomes  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 29 de fevereiro de 2024.

*“Em algum lugar, algo incrível está  
esperando para ser descoberto.”  
(Carl Sagan).*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a toda minha família, aos meus pais Edenice e Agnaldo, por todo o apoio, incentivo e esforços para que eu pudesse chegar até aqui. Ao meu irmão Leonardo, pela parceria e convívio diário ao longo desse período.

Sou extremamente grata à Universidade Estadual de Londrina, pela oportunidade da minha formação pessoal e profissional, na qual me formei Engenheira Agrônoma e hoje posso estar concluindo o mestrado em suas dependências. Assim como sou grata a todos os docentes e funcionários que contribuíram e possibilitaram minha formação.

Agradeço a CAPES - Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa de estudo ao longo desses dois anos, que foi fundamental para dedicação exclusiva e tornou viável a minha formação na pós-graduação.

Agradeço aos meus amigos de pós-graduação Aida Fukuji e João Pedro Chacon, que estiveram ao meu lado desde o início, me apoiando e participando dos desafios, e que muito me ajudaram a adquirir conhecimento. Ao amigo e graduando de agronomia Marcos Marchiori, por todo apoio e dedicação na execução e conclusão desse projeto.

Meus agradecimentos à minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca por todo empenho, contribuição e paciência para a finalização do trabalho, ao Prof. Dr. Claudemir Zucarelli por todo apoio, aconselhamento e ideias. Ao meu coorientador Prof. Dr. André Sampaio Ferreira, que participou com grande contribuição para meu conhecimento e desenvolvimento profissional desde minha graduação até a conclusão deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira e à Prof. Dra. Amedea Barozzi Seabra, pelo conhecimento, ideias, fornecimento de material e metodologias que contribuíram e possibilitaram a realização e conclusão dessa dissertação.

À banca examinadora composta pela Dra. Carolina Maria Gaspar de Oliveira, Dr. Diego Genuário Gomes e Dr. André Sampaio Ferreira, pelas correções e sugestões para o aperfeiçoamento deste trabalho.

A todos, muito obrigada!

BELUZZO, Letícia Elisiane. **Nanopartículas de quitosana liberadoras de óxido nítrico no tratamento de sementes de feijão sob estresse por déficit hídrico e alumínio**. 2024. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

## RESUMO

No Brasil, a cultura do feijão está sujeita a vários estresses abióticos, como o déficit hídrico e ao alto teor de alumínio no solo, o qual em contato com as raízes das plantas prejudica seu crescimento e desenvolvimento, dificultando a absorção de água e de nutrientes essenciais. O uso de nanotecnologia aplicada a agricultura vem crescendo nos últimos anos, principalmente associada ao uso de moléculas que beneficiam as plantas. O óxido nítrico (NO) é uma dessas moléculas, auxiliando e protegendo as plantas em condição de estresse. Os objetivos foram: identificar os níveis de tolerância das cultivares IPR Sabiá e IPR Quero-Quero ao estresse por diferentes concentrações de alumínio durante a germinação, e avaliar o efeito protetivo de diferentes concentrações de doadores de NO nanoencapsulado em sementes de feijão submetidas ao estresse por alumínio e ao déficit hídrico, no desempenho germinativo e no crescimento inicial das plântulas. Um experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x5 com 4 repetições, sendo duas cultivares de feijão: IPR Quero-quero e IPR Sabiá, e cinco concentrações de alumínio: 0, 5, 10, 15, 20 mmol L<sup>-1</sup> para identificar o nível de tolerância de cada cultivar. Posteriormente, conduziram-se dois experimentos sob delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 10x2 com quatro repetições, em que foram realizados experimentos separados para investigar o efeito dos doadores de NO nanoencapsulado em condições de estresse por alumínio e por déficit hídrico. Os tratamentos consistiram em dez concentrações de nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (GSNO) aplicadas nas sementes: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500 µmol L<sup>-1</sup>, em ausência e presença de estresse, por alumínio ou déficit hídrico. Foram avaliados o desempenho germinativo e o desenvolvimento radicular e da parte aérea. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade, análise de variância e regressão polinomial para as concentrações, a 5% de significância. Foi identificado que a cultivar IPR Sábria possui características de melhor tolerância ao alumínio quando comparada a IPR Quero-quero, demonstrando assim, aptidão dessa cultivar para regiões de cultivo em solos com maiores teores de alumínio. A concentração de alumínio que resultou em fitotoxicidade, com sintomas visíveis na germinação e no crescimento das plântulas de feijão, ocorreu acima de 10 mmol L<sup>-1</sup>, com efeitos mais severos na concentração de 20 mmol L<sup>-1</sup>. Na condição de estresse por alumínio, nenhuma das concentrações testadas promoveram efeito protetivo ao estresse, com os tratamentos agindo como mais um agente estressante, sendo prejudicial para o desempenho germinativo. Em condição de déficit hídrico, os tratamentos contendo NO foram identificados como limitantes nas menores concentrações testadas, com uma melhora na concentração mais alta, de 1500 µmol L<sup>-1</sup>, indicando a importância de mais estudos em maiores concentrações.

**Palavras-chave:** nanotecnologia; *Phaseolus vulgaris* L.; estresse abiótico; germinação; vigor.

BELUZZO, Letícia Elisiane. **Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles in the treatment of bean seeds under stress due to water deficit and aluminum**. 2024. 68 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

## ABSTRACT

The common bean in Brazil is subject to several abiotic stresses, such as water deficit and high aluminum content in the soil, which in contact with the roots of the plants impairs their growth and development, hindering the absorption of water and essential nutrients. The use of nanotechnology applied to agriculture has been growing in recent years, mainly associated with the use of molecules that benefit plants. Nitric oxide (NO) is one of these molecules, aiding and protecting plants under stress. The objectives were: to identify the tolerance levels of the cultivars IPR Sabiá and IPR Quero-Quero to stress by different concentrations of aluminum during germination, and to evaluate the protective effect of different concentrations of nanoencapsulated NO donors in bean seeds subjected to aluminum stress and water deficit, on germination performance and initial seedling growth. An experiment was carried out in a 2x5 factorial scheme with 4 replications, two common bean cultivars: IPR Quero-quero and IPR Sabiá, and five concentrations of aluminum: 0, 5, 10, 15, 20 mmol L<sup>-1</sup> to identify the tolerance level of each cultivar. Subsequently, two experiments were conducted in a completely randomized design in a 10x2 factorial scheme with four replications, in which separate experiments were carried out to investigate the effect of nanoencapsulated NO donors under conditions of aluminum stress and water deficit. The treatments consisted of ten concentrations of chitosan nanoparticles containing S-nitrosoglutathione (GSNO) applied to the seeds: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 and 1500 µmol L<sup>-1</sup>, in the absence and presence of stress, by aluminum or water deficit. Germination performance and root and shoot development were evaluated. The data obtained were submitted to the normality and homogeneity test, analysis of variance and polynomial regression for the concentrations, at 5% significance. It was identified that the cultivar IPR Sábia has characteristics of better tolerance to aluminum when compared to IPR Quero-quero, thus demonstrating the suitability of this cultivar for cultivation regions in soils with higher aluminum contents. The concentration of aluminum that resulted in phytotoxicity, with visible symptoms on germination and growth of bean seedlings, occurred above 10 mmol L<sup>-1</sup>, with more severe effects at the concentration of 20 mmol L<sup>-1</sup>. In the condition of stress by aluminum, none of the concentrations tested promoted a protective effect against stress, with the treatments acting as another stressor, being detrimental to the germination performance. In conditions of water deficit, treatments containing NO were identified as limiting at the lowest concentrations tested, with an improvement in the highest concentration of 1500 µmol L<sup>-1</sup>, indicating the importance of further studies at higher concentrations.

**Key-words:** nanotechnology; *Phaseolus vulgaris* L.; abiotic stress; germination; vigor.

## LISTA DE FIGURAS

### **ARTIGO A**

- Figura 1** – Análise de regressão para variável de primeira contagem (PC) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares ..... 21
- Figura 2** – Análise de regressão para variável de germinação total (G) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares ..... 22
- Figura 3** – Análise de regressão para variável de plântulas anormais (ANOR) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares. .... 23
- Figura 4** – Plântulas de feijão germinadas sob efeito de toxidez por alumínio em uma concentração de 15 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sup>3+</sup>, apresentando sintomas de toxidez como encurtamento da raiz principal e escurecimento do sistema radicular. .... 23
- Figura 5** – Análise de regressão para variável sementes mortas (MORT) em função das concentrações de alumínio as para duas cultivares ..... 24
- Figura 6** – Análise de regressão para a variável de comprimento de parte aérea (CPA) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares ..... 25
- Figura 7** – Análise de regressão para a variável de comprimento de raiz (CR) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares ..... 25
- Figura 8** – Análise de regressão para a variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares. .... 26
- Figura 9** – Plântula sem efeito de toxidez por alumínio (A) e planta submetida a uma concentração de 15 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sup>3+</sup> apresentando sintomas de toxidez (B). .... 27

### **ARTIGO B**

- Figura 1** – Análise de regressão das variáveis primeira contagem (PC) e germinação total (G) em função das concentrações de

	óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.....	36
<b>Figura 2 –</b>	Análise de regressão para a variável de germinação total (G) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.....	38
<b>Figura 3 –</b>	Análise de regressão para a variável plântulas anormais (ANOR) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.....	38
<b>Figura 4 –</b>	Análise de regressão para a variável de sementes mortas (MORT), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.....	39
<b>Figura 5 –</b>	Análise de regressão para variável de comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.....	40
<b>Figura 6 –</b>	Análise de regressão para a variável de massa seca de parte aérea (MSPA), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.....	42
<b>Figura 7 –</b>	Análise de regressão para a variável de massa seca de raiz (MSR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.....	42

### **ARTIGO C**

<b>Figura 1 –</b>	Análise de regressão para a variável de primeira contagem (PC), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico.....	50
<b>Figura 2 –</b>	Análise de regressão para a variável de germinação total (G), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.....	51
<b>Figura 3 –</b>	Análise de regressão para a variável de plântulas anormais (ANOR), em função das concentrações de óxido nítrico	

	nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico .....	53
<b>Figura 4 –</b>	Análise de regressão para a variável de sementes mortas (MORT), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão .....	53
<b>Figura 5 –</b>	Análise de regressão para as variáveis de comprimento de parte aérea e de raiz (CPA e CR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico .....	55
<b>Figura 6 –</b>	Análise de regressão para a variável de massa seca de raiz (MSR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico .....	57

## LISTA DE TABELAS

### **ARTIGO A**

- Tabela 1** – Resumo da análise de variância para as variáveis de desempenho germinativo e de crescimento de duas cultivares de feijão, sob estresse por alumínio em cinco concentrações..... 20
- Tabela 2** – Resultados de comparação de médias para as duas cultivares, pelo teste F, germinadas em condição de estresse em cinco concentrações de alumínio ..... 27

### **ARTIGO B**

- Tabela 1** – Resumo da análise de variância para as variáveis de desempenho germinativo e crescimento inicial de plântulas do tratamento de sementes de feijão, sob concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado, em condições sem e com estresse por alumínio ..... 35
- Tabela 2** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de PC, G e ANOR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por alumínio ..... 37
- Tabela 3** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de CPA e CR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por alumínio ..... 40
- Tabela 4** – Teste de média para o fator ambiente, pelo teste F, para variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por alumínio ..... 41

### **ARTIGO C**

- Tabela 1** – Resumo da análise de variância para as variáveis de desempenho germinativo de feijão, sob concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado, em condições sem e com

	estresse por déficit hídrico .....	49
<b>Tabela 2 –</b>	Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de PC e ANOR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico .....	50
<b>Tabela 3 –</b>	Teste de média para o fator ambiente pelo teste F, para variável de germinação total (G) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico.....	52
<b>Tabela 4 –</b>	Teste de média para o fator ambiente, pelo teste F, para variável de sementes mortas (MORT) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico .....	54
<b>Tabela 5 –</b>	Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração para as variáveis de CPA, CR e MSR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico .....	55
<b>Tabela 6 –</b>	Teste de média para o fator ambiente, pelo teste F, para variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico .....	56

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>05</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>07</b>
<b>2.1</b>	<b>Importância socioeconômica da cultura do feijão</b> .....	<b>07</b>
<b>2.2</b>	<b>Estresse abiótico em plantas</b> .....	<b>09</b>
2.2.1	Alumínio no solo e seu efeito tóxico em plantas .....	10
2.2.2	Efeitos do déficit hídrico em plantas .....	11
<b>2.3</b>	<b>Óxido Nítrico e seus efeitos em plantas</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4</b>	<b>Nanotecnologia e nanopartículas na agricultura</b> .....	<b>13</b>
2.4.1	Óxido Nítrico nanoencapsulado .....	14
<b>3</b>	<b>ARTIGO A: DESEMPENHO GERMINATIVO DO FEIJÃO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALUMÍNIO</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Resumo</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>17</b>
<b>3.3</b>	<b>Material e métodos</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>20</b>
<b>3.5</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6</b>	<b>Referências</b> .....	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO B: CONCENTRAÇÕES DE DOADOR DE OXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO SUBMETIDO a ESTRESSE POR ALUMÍNIO</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Resumo</b> .....	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>31</b>
<b>4.3</b>	<b>Material e métodos</b> .....	<b>33</b>
<b>4.4</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>35</b>
<b>4.5</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>43</b>
<b>4.6</b>	<b>Referências</b> .....	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGO C: CONCENTRAÇÕES DE DOADOR DE ÓXIDO</b>	

	<b>NÍTRICO NANOENCAPSULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO SUBMETIDOS ao ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO</b> .....	45
<b>5.1</b>	<b>Resumo</b> .....	45
<b>5.2</b>	<b>Introdução</b> .....	45
<b>5.3</b>	<b>Material e métodos</b> .....	47
<b>5.4</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	49
<b>5.5</b>	<b>Conclusão</b> .....	58
<b>5.6</b>	<b>Referências</b> .....	58
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	61
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta leguminosa da família Fabaceae com grande importância socioeconômica, principalmente para os países produtores. A maior parte dos brasileiros consome diariamente o feijão, devido o grão ser uma fonte de proteína, minerais, fibras, carboidratos e vitaminas. O Brasil é um dos maiores produtores de feijão do mundo, com média anual de 2,9 milhões de toneladas e produtividade média de 1.100 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2022). No Brasil, o cultivo do feijão ocorre em todo o território nacional, durante o ano todo, devido ao seu ciclo curto que torna possível até três safras anuais. Entretanto, apesar da possibilidade de plantio em locais com diferentes características e condições ambientais, o feijão é uma cultura sujeita a várias intempéries climáticas ao longo do seu desenvolvimento.

É comum o cultivo em solos de textura areno-argilosa, que possuem características físicas favoráveis ao seu sistema radicular, porém além dessas regiões possuem alto teor de alumínio no solo, a maior parte desses solos são caracterizados como ácidos. O baixo pH torna o alumínio solúvel e absorvível pela planta. O feijoeiro, sendo uma planta sensível ao alumínio, apresenta alterações morfofisiológicas em caso de toxidez, como inibição do processo de alongamento e divisão celular, enrolamento de folhas jovens e mudanças no sistema radicular das plantas, tornando-o atrofiado, grosso e quebradiço. Estas alterações reduzem a capacidade de absorção de água e nutrientes.

Além das diferentes regiões de cultivo e seus diferentes climas, os veranicos vêm se tornando cada vez mais frequentes e intensos, ocasionando déficit hídrico e, conseqüentemente, comprometendo o desenvolvimento da cultura. Em diversas regiões produtoras do país é comum a ocorrência de períodos de seca com baixa precipitação pluvial, que tem efeito negativo direto na germinação das sementes e emergência de plântulas. Isso resulta em um menor estande de plantas.

Neste cenário, há algumas alternativas que visam diminuir o efeito do estresse, dentre elas, está a utilização do óxido nítrico (NO). Alguns estudos têm demonstrado que o NO pode regular processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento de plantas. Nas sementes, atua na indução do processo germinativo e inibição da respiração após a embebição. Por sua vez, no sistema radicular, promove o alongamento e formação das raízes adventícias, podendo aumentar a tolerância da planta ao estresse. É uma molécula capaz de ativar enzimas

antioxidantes que atuam na proteção contra estresses bióticos e abióticos, sendo amplamente pesquisado com o propósito de melhorar a implantação, crescimento e desenvolvimento das culturas.

Porém, os doadores de NO utilizados são muito instáveis, a maioria na forma gasosa, com um curto tempo de vida e ação, reduzindo assim seu efeito nas plantas após a aplicação. Uma alternativa para garantir uma liberação mais precisa e eficiente do NO, é utilizando nanopartículas poliméricas que possibilitam a liberação controlada, garantindo maior atividade do NO nas plantas. Dentre as nanopartículas mais utilizadas, está a de quitosana, um polímero biodegradável e atóxico, que é extraído da quitina, o segundo polímero encontrado em maior quantidade depois da celulose. Estudos demonstraram que nanopartículas de quitosana liberadoras de NO são uma forma mais eficiente de fornecer esta molécula para os vegetais.

Dessa forma, há a necessidade de mais estudos e pesquisa a respeito da influência do NO no tratamento de sementes de feijão, assim como, a aplicação na forma nanoencapsulada, visando mitigar os efeitos de estresses como déficit hídrico e excesso de alumínio no solo, garantindo o desenvolvimento adequado da cultura sob condições climáticas adversas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar os níveis de tolerância das cultivares de feijão IPR Sabiá e IPR Quero-Quero ao estresse por alumínio durante a germinação e qual concentração acarreta fitotoxicidade por alumínio; avaliar o efeito protetivo do tratamento com diferentes concentrações do NO nanoencapsulado em sementes de feijão submetidas a estresse por alumínio ou déficit hídrico, sobre o desempenho germinativo e crescimento e desenvolvimento inicial das plântulas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DA CULTURA DO FEIJÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie leguminosa da família Fabaceae que possui como centro de origem as Américas e se destaca mundialmente como importante alimento, por possuir alto teor de proteína em seus grãos, além de antioxidantes, minerais, ferro e zinco (BEEBE et al., 2013).

Devido a esses fatores o feijão possui grande importância social e econômica, principalmente por estar presente na alimentação como uma das principais fontes de proteína vegetal, sobretudo em países com alto consumo deste grão, como o Brasil. Além disso, oferece fibras, carboidratos, vitaminas e micronutrientes requeridos em quantidades suficientes para uma alimentação saudável. Apresenta grande impacto social, pois é um alimento que garante segurança alimentar e nutricional entre consumidores de baixa renda (BEEBE et al., 2013).

É considerada uma das principais leguminosas utilizadas no sustento humano, sendo base da alimentação da população da África, Ásia e América Latina, principalmente dos brasileiros. Cerca de 70% dos brasileiros consomem diariamente feijão, com um consumo per capita estimado em 17 kg hab<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. O papel dessa leguminosa é cada vez mais importante e estratégico para a segurança alimentar, sendo fundamental para um planeta cada vez mais populoso e que deverá ser mais sustentável e funcional (MAPA, 2018).

Segundo Lüders (2021), no futuro muitas pessoas consumirão leguminosas como fonte de proteína, por questões de princípios como os vegetarianos e veganos, ou por questões econômicas por conta do encarecimento das proteínas animais. Uma porção de cerca de 100 gramas de leguminosas contém até 9 gramas de proteína, o dobro oferecido pela mesma quantidade de quinoa. Porém, a grande diferença das leguminosas em relação a outros alimentos ricos em proteínas é a baixa quantidade de gordura, sendo uma proteína de fácil digestão. Uma característica das leguminosas é sua capacidade de não provocar picos de glicose no sangue. Ao ingerirmos leguminosas, a glicose é incorporada lentamente ao sangue, o que mantém controlados os níveis de açúcar causando a sensação de saciedade (IBRAFE, 2022).

Das espécies de leguminosas cultivadas para consumo humano, o feijão representa 41%, sendo considerado um dos mais importantes grãos cultivados em escala global. A maior produção ocorre nos continentes americano e africano. A produção mundial de feijão é de aproximadamente 32 milhões de toneladas. Dentre os principais tipos de feijão consumido em todo o mundo, cita-se: feijões rajados, carioca, preto, branco, vermelho, borloti e canelini. De acordo a FAO, os principais países produtores são Nigéria, Myanmar, Índia e Brasil, com produções em milhões de toneladas. No continente americano, países como Brasil, Estados Unidos da América e México são os três maiores produtores, contribuindo com aproximadamente 6 milhões de toneladas anuais. A produção dos EUA é mais voltada à exportação, enquanto os demais países produzem para consumo interno. O continente africano também participa com uma produção expressiva, em torno de 32% da produção mundial, sendo a produção concentrada na África oriental e central e destinada para o consumo interno (RAWAL; NAVARRO, 2019).

Entres os países que compõem o Mercosul, o Brasil destaca-se como maior produtor, com o grão cultivado em todo território nacional e com uma produção voltada quase que inteiramente para abastecer o consumo interno do país, com produção anual de 2,9 milhões de toneladas e produtividade média de 1100 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2022). As classes comerciais de feijão carioca e preto são os principais tipos produzidos e consumidos no país. O feijão preto é cultivado principalmente na região sul do país, com destaque para os estados do Paraná e Rio Grande do Sul. Já a classe comercial carioca, destaca-se na região Sudeste, e em partes do Nordeste e do Sul do Brasil (RAWAL; NAVARRO, 2019).

Por ser uma cultura característica de ciclo curto é cultivado em três principais safras durante o ano. A primeira, também conhecida como safra das águas, é semeada entre os meses de agosto a dezembro e corresponde a 35% da produção nacional. A segunda safra (da seca), a semeadura é realizada entre janeiro e abril e contribui com aproximadamente 40% da produção. A terceira safra (outono-inverno) ocorre entre os meses de maio a julho, predominando o sistema de produção irrigado, e participa com 25% da produção, obtendo maiores produtividades em relação às demais safras (FÁTIMA et al., 2013; CONAB, 2022).

## 2.2 ESTRESSE ABIÓTICO EM PLANTAS

Uma variedade de fatores, exercem influência significativa no crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas de feijão. Dentre os estresses abióticos provenientes de condições climáticas adversas, os mais frequentes para o feijoeiro são o déficit hídrico, variações extremas de temperatura, deficiência nutricional e a presença de metais pesados (ASSEFA et al., 2019).

Altas temperaturas podem afetar o desenvolvimento das estruturas florais e das sementes, levando à queda de órgãos reprodutivos e reduzindo a formação de vagens, com impacto negativo na produção final da cultura. Além disso, altas temperaturas, quando combinadas com alta umidade, criam condições favoráveis para o desenvolvimento de doenças (PEREIRA et al., 2014).

A disponibilidade de água é um dos fatores críticos que afetam a produtividade do feijão, pois a planta é altamente sensível ao déficit hídrico. A falta de água prejudica significativamente o rendimento da cultura, interrompendo principalmente o processo fotossintético. Quando a deficiência hídrica ocorre no início do ciclo da cultura, resulta em uma redução no crescimento das plantas, na área fotossintética e na produção de flores, vagens e sementes por vagem, podendo levar ao aborto de flores e vagens (ANDROCIOLO et al., 2019).

Dado que o sistema radicular do feijão é superficial em comparação com outras culturas, ele é particularmente sensível aos efeitos do déficit hídrico, que, quando combinado com altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar, aumenta a taxa de transpiração e, conseqüentemente, a demanda por água, resultando em perdas na produção de vagens e no enchimento dos grãos, especialmente em condições de toxicidade por alumínio (PEREIRA et al., 2014).

O excesso de alumínio é tóxico para as plantas de feijão, inibindo o desenvolvimento das raízes e reduzindo o alongamento delas, o que resulta na diminuição da condutividade hidráulica e na extensibilidade das paredes celulares das raízes (YANG et al., 2012; TÓTH et al., 2017). Esses fatores abióticos podem impor limitações ao desenvolvimento do feijão, que tem suas próprias necessidades agroclimáticas para um crescimento ótimo. Portanto, é fundamental compreender as respostas da cultura a esses fatores, a fim de aumentar a produção e minimizar perdas (PEREIRA et al., 2014).

### 2.2.1 Alumínio no Solo e seu Efeito Tóxico em Plantas

O alumínio está presente na constituição da crosta terrestre, sendo o terceiro elemento químico mais abundante. Em pH acima de 6,0, as formas químicas do alumínio encontram-se pouco solúveis na rizosfera, porém, quando o pH do solo diminui, tornam-se solúveis e podendo induzir alterações morfofisiológicas nas plantas (BIAN et al., 2013).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) é uma resposta primária da toxicidade do alumínio em plantas, causando estresse oxidativo de lipídios nas membranas celulares e ativando a expressão de genes que codificam enzimas antioxidantes (WANG; YANG, 2005). Diferentes enzimas e metabólitos podem atuar para combater a ação das EROS, gerando mecanismos antioxidativos que determinam a proteção contra danos gerados pelas EROS e, conseqüentemente, a tolerância da planta frente ao agente estressante (NAKABAYASHI; SAITO, 2015).

As altas concentrações de  $Al^{3+}$  em solução, interferem na inibição do crescimento da raiz que se torna mensurável dentro de poucos minutos após exposição a concentrações micromolares desse metal. Além disso, podem ocorrer danos na membrana plasmática, alterando sua permeabilidade, fluidez e integridade (MATSUMOTO et al., 2015). Uma vez que tenha atravessado a membrana plasmática, o  $Al^{3+}$  pode se ligar fortemente ao núcleo e inibir a divisão celular (KOPITTKKE et al., 2016).

Com o aumento da concentração de alumínio, ocorre nas raízes um engrossamento, tornando as pontas amareladas, degeneradas, tortuosas, com ramificações secundárias e sem os pelos absorventes, além da redução no acúmulo de massa seca das plantas expostas a altos níveis de concentração de  $Al^{3+}$ , que tendem a apresentar comprimento radicular menor, fato este explicado pela inibição da expansão celular nas raízes além da inibição da divisão celular, provocando nas raízes da planta anomalias anatômicas (FIDELIS et al., 2018). Também é observado sintomas de déficit nutricional uma vez que ele interfere no processo de absorção, translocação e transporte de nutrientes (SIVAGURU et al., 1998; FREITAS et al., 2006).

Estudos têm demonstrado que a tolerância ao alumínio no feijão está relacionada ao menor acúmulo do elemento nas pontas das raízes. O qual está relacionado a desintoxicação deste no apoplasto por meio de exsudatos radiculares,

como o exsudato de citrato (RANGEL et al. 2010).

Trabalho realizado por Eticha et al. (2010) mostrou que o  $Al^{3+}$  induz a expressão de um gene MATE (proteína da família de extrusão de drogas e toxinas) em ápices radiculares, sendo este, um pré-requisito para a exsudação de citrato e a resistência ao  $Al^{3+}$  em feijão. Além disso, a inibição do alongamento radicular induzida por  $Al^{3+}$  foi positivamente correlacionada com a expressão de um gene da ACCO (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico do ácido oxidase) no ápice da raiz. A expressão de MATE e ACCO tem sido usada como um indicador sensível do impacto do Al no ápice radicular do feijão (YANG et al., 2012).

### 2.2.2 Efeitos do Déficit Hídrico em Plantas

O déficit hídrico é principalmente causado pelas mudanças climáticas que ocorrem ao longo dos anos, resultando em períodos de estiagem mais frequentes, caracterizados pela falta de precipitação pluvial (PARKASH; SINGH, 2020).

O consumo de hídrico do feijoeiro pode variar entre 300 e 600 mm de água ao longo do seu ciclo de desenvolvimento, dependendo da cultivar e do ambiente onde é cultivado (PAVANI et al., 2008). Cerca de 60% da produção de feijão é dependente das condições hídricas do ambiente (MAGALHÃES et al., 2019). Assim como na maior parte das culturas agrícolas, os períodos mais críticos para a falta de água ocorrem durante a germinação e emergência das plântulas, e no período reprodutivo de florescimento e enchimento de grãos (FARIAS et al., 2007).

A falta de água pode afetar processos fisiológicos e limitar a produção agrícola, impedindo que ocorra a solubilização de elementos químicos, como fertilizantes, causando alterações na absorção de nutrientes e na fisiologia das plantas (SMITH et al., 2019). Essas alterações demandam muita energia para sobrevivência, o que impede o crescimento e desenvolvimento vegetal, afetando diretamente a produtividade (RAY et al., 2018). Dentre os fatores abióticos, a deficiência hídrica é uma das principais limitações ambientais que afeta a produção de todas as culturas no mundo (ARTEAGA et al., 2020).

O processo germinativo e o estabelecimento de plântulas no campo são afetados pela falta de água, com o retardamento da germinação e da emergência da radícula e o surgimento de problemas fitopatológicos devido à ampliação do tempo de germinação. Os efeitos também se apresentam após a emergência do eixo

embrionário, refletindo no mau desenvolvimento da planta. De maneira geral, a deficiência hídrica causa danos tanto à parte aérea quanto ao sistema radicular (MARCOS FILHO, 2015).

Em condições de déficit hídrico as plantas desencadeiam respostas ao estresse, resultando alterações morfológicas e nos processos físico-químicos, a fim de aumentar a defesa da planta (CARABALLO, 2006). Como alterações de resposta ao estresse está o acúmulo de osmoprotetores, que agem nas células controlando o ajustamento osmótico, que respondem rapidamente a desidratação dos tecidos (SINGH et al., 2015).

Além disso, conforme Yang et al. (2012) observaram, quando o feijão enfrenta déficit hídrico, as lesões nas pontas das raízes, causadas pela toxicidade do alumínio, são atenuadas devido à menor formação de calose induzida pelo alumínio e à reduzida expressão do gene MATE. No entanto, o alumínio torna o ápice radicular mais suscetível à seca, resultando na inibição do alongamento radicular e interrompendo a rede reguladora de genes envolvida na transcrição do sinal ABA, bem como na interação cruzada desse sinal com outros fitohormônios essenciais para sustentar o crescimento radicular durante períodos de seca.

### 2.3 ÓXIDO NÍTRICO E SEUS EFEITOS EM PLANTAS

O óxido nítrico (NO) é um radical livre gasoso que reage rapidamente com outros átomos ou moléculas que contêm elétrons não pareados, podendo atuar em importantes rotas de sinalização. A sua estrutura química permite sua rápida difusão e transmissão de sinal, por possuir vida curta na presença de oxigênio, sendo assim removido de forma eficiente, após encerrar a mensagem que originalmente foi enviada para transmitir (NEILL et al., 2003).

As principais rotas propostas para a síntese de NO em plantas são as vias de redução e oxidação. A primeira é dependente de nitrito como substrato primário e apresenta redução pelas enzimas nitrato redutase (NR) e NO-nitrito redutase (NiNOR) a nitrito mitocondrial (PLANCHET et al., 2005). Nas rotas oxidativas, a produção pode ocorrer a partir de L-arginina (L-Arg), poliaminas ou hidroxilaminas (YU et al., 2014).

Alguns estudos têm mostrado que o NO pode regular processos

relacionados ao crescimento e desenvolvimento de plantas. Nas sementes, atua na indução do processo germinativo e da respiração após a embebição. Por sua vez, no sistema radicular, promove o alongamento e formação das raízes adventícias (BETHKE et al., 2004). A molécula de NO também pode aumentar a tolerância de uma planta em condição de estresse (SIMONTACCHI et al., 2015). Aplicações de NO em plantas podem proteger e aliviar o efeito de diversos estresses bióticos e abióticos (NATH et al., 2017). Estudos com diferentes espécies têm buscado entender o papel do NO no metabolismo vegetal em resposta ao excesso de alumínio (WANG; YANG, 2005; SUN et al., 2014)

Wang, Huang e Bi (2010) observaram um aumento de EROS induzido pelo alumínio nas raízes de feijão. No entanto, eles notaram que a produção de NO, mediada pela enzima nitrato redutase, resultou em uma diminuição da inibição do alongamento radicular. Várias teorias têm sido propostas sobre o papel do NO nos tecidos vegetais durante o estresse causado pelo alumínio. Entre elas, destacam-se: o NO pode estar associado ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes para controlar a produção de EROS induzida pelo alumínio; o NO pode agir reduzindo a concentração de alumínio no citoplasma, modificando componentes como compostos fenólicos e ácidos orgânicos, e aumentando o acúmulo de alumínio na parede celular das raízes; e o NO pode estar envolvido na regulação da expressão gênica para melhorar a tolerância ao alumínio nas plantas (HE et al., 2012).

## 2.4 NANOTECONOLOGIA E NANOPARTÍCULAS NA AGRICULTURA

O desenvolvimento da nanotecnologia proporcionou inovações para quase todos os campos industriais com profundo impacto na vida humana (LINKOV et al., 2011). Esta tecnologia evidenciou aplicações amplas e notáveis em diversas áreas, como eletrônicos, medicamentos, cosméticos, têxteis, ciência alimentar, setor de energia e agricultura (CARUTHERS et al., 2007; SHARON et al., 2010; SASTRY et al., 2011).

A nanotecnologia é uma nova abordagem que tem sido usada com sucesso para uma ampla gama de aplicações agrícolas para modular vários processos, como germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas, fotossíntese, equilíbrio hormonal, resistência à doenças e nutrição de plantas (JIANG et al., 2021; AHMAD et al., 2022)

Uma das estratégias mais promissoras é a nanoencapsulação de agroquímicos, para melhorar eficiência de ação nas plantas (FINCHEIRA et al., 2021). O ingrediente ativo fica ligado a um nanomaterial que o protege da rápida degradação, além de permitir sua liberação controlada. Devido à maior área de superfície específica e capacidade dos nanomateriais de interagir com as células em comparação com materiais a granel, a nanoencapsulação aumenta a absorção de ingredientes ativos pelos tecidos vegetais, reduzindo suas perdas no ambiente e, conseqüentemente, podendo tornar a aplicação de agroquímicos uma prática mais eficiente (PASCOLI et al., 2018; TAKESHITA et al., 2021).

A agricultura pode se beneficiar com o desenvolvimento de sistemas carreadores capazes de melhorar a estabilidade físico-química de agroquímicos, bem como o a liberação modificada para tais ingredientes ativos, ajudando a fornecê-los na hora e lugar certo, reduzindo a ação de agentes externos e minimizando as perdas por degradação, lixiviação e volatilização. O efeito esperado deve ser uma redução na quantidade de substâncias químicas ativas incorporadas nas plantas e nos solos, atenuando o impacto negativo no meio ambiente (PÉREZ-DE-LUQUE, 2017).

#### 2.4.1 Óxido Nítrico Nanoencapsulado

O tratamento direto das plantas com NO é tecnicamente difícil, dada a natureza gasosa do NO (VITOR et al., 2013). Além disso, doadores de NO são compostos instáveis que podem ter sua decomposição acelerada pela ação de altas temperaturas e exposição à luz, levando a uma rápida liberação de NO, o que pode resultar em efeitos tóxicos e redução da eficácia (SEABRA; DURÁN, 2010; SEABRA et al., 2015).

A nanoencapsulação dos doadores de NO surgiu como uma estratégia que poderia proteger essas moléculas da rápida decomposição/degradação e permitir uma liberação de NO controlada, estendendo seu período de ação (SEABRA et al., 2015). Na biomedicina já são utilizadas nanopartículas poliméricas como carreadoras de NO (PIERETTI et al., 2020).

Em plantas, a aplicação de doadores de NO nanoencapsulados ainda é recente, com alguns estudos indicando enormes benefícios para esta área, principalmente visando a aplicação sustentável e eficiente de NO sob diversas condições ambientais, acarretando melhor biodisponibilidade de NO em tecidos

vegetais. Existem diferentes maneiras de fornecer doadores de NO nanoencapsulados às plantas, tais como: tratamento de sementes, correção do solo, pulverização de folhas e frutos. A via de entrada do nanocarreador na planta também é variável e pode resultar em diferentes respostas (FINCHEIRA et al., 2020; PEREIRA et al., 2021).

Os doadores de NO podem se apresentar na forma: S-nitrosotióis (SNOs), óxido dinítrico de dietilamina, diazeniodiolatos, nitroprussiato de sódio (SNP), sal negro de Roussin, complexos metálicos de nitrosila e ácidos graxos nitro (MATA-PEREZ et al., 2016), e na forma de moléculas que induzem a síntese endógena de NO pelas plantas, como nitrato/nitrato orgânico, nitrito, poliaminas e L-arginina (PISSOLATO et al., 2020; SILVEIRA et al., 2021; SEABRA et al., 2022).

Os nanomateriais também podem variar em tamanho, morfologia, composição química, carga superficial e presença de grupos funcionais, podendo interferir nos efeitos biológicos das nano formulações liberadoras de NO. As características das nanopartículas, interferem na sua adesão e absorção pelas plantas, internalização celular e a translocação. Desse modo, pode se utilizar de diferentes nanomateriais para uma determinada finalidade (AVELLAN et al., 2021; ZHANG et al., 2021).

Dentre as possibilidades, as nanopartículas poliméricas vêm sendo estudadas e desenvolvidas como sistemas carreados para liberação controlada do NO. As nanopartículas poliméricas podem ser à base de biopolímeros, como é o caso da quitosana. A quitosana é um polímero linear de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina e contém muitos grupos funcionais, como grupos amino e hidroxila, razão de sua flexibilidade e de ser uma opção para diferentes aplicações. Morfologicamente, a quitosana é encontrada em muitas formas diferentes, como cristalina, semicristalina e não organizada, que depende da fonte de quitina utilizada (MOHAMMED et al. 2017) A quitosana é um polissacarídeo de origem natural e pode ser preparada de forma massiva e econômica a partir da quitina, que perde apenas para a celulose em termos de abundância na natureza (PAKDEL e PEIGHAMBARDoust, 2018).

Encontrada em várias formas vivas, a quitina é amplamente extraída da casca dos crustáceos. Devido à crescente demanda, outros processos de extração estão sendo pesquisados. A quitina é um polímero, ocorre em 3 formas: quitina- $\alpha$  (cadeias antiparalelas), quitina- $\beta$  (cadeias paralelas com ligação H) e

quitina-  $\gamma$  (cadeias paralelas e antiparalelas) (PARHI, 2020). A terceira forma  $\gamma$  -quitina é vista como uma combinação das formas  $\alpha$  e  $\beta$ . A  $\alpha$  -quitina é encontrada principalmente no exoesqueleto de crustáceos, células de levedura e cutículas de artrópodes e é o polimorfo mais abundante, enquanto a  $\beta$  -quitina é extraída de currais de lula. A  $\beta$  -quitina pode ser facilmente convertida em sua forma  $\alpha$ . A quitina é insolúvel em solventes inorgânicos e orgânicos devido à forte rede de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares. Como a quitina é insolúvel, a quitosana, o produto desacetilado da quitina, tem chamado a atenção e é utilizada na maioria das indústrias (JIMÉNEZ-GÓMEZ e CECILIA, 2020)

Além disso, a quitosana é biodegradável, biocompatível, atóxica e com propriedades mucoadesivas, facilitando o transporte desses compostos ativos através das membranas celulares, o que implica um grande potencial para uso na indústria agroquímica, além de ser considerada um excelente biopolímero para preparação de micro e nanopartículas etc, sendo uma ótima alternativa para síntese de nanopartículas poliméricas (KUMARASWAMY et al., 2018), protegendo macromoléculas de se degradarem em meio biológico, além de fazer a liberação de forma controlada até o alvo desejado (PERERA, 2013).

Os sistemas à base de quitosana têm ampla e crescente aplicações na indústria alimentar e bioquímica. Alguns ingredientes podem ser encapsulados, independentemente de serem hidrofóbicos, hidrofílicos ou bacterianos (ZHAO et al., 2011). A quitosana retém a bioatividade de macromoléculas, como o DNA e algumas proteínas durante o encapsulamento. A carga positiva oriunda da quitosana ajuda a estabelecer uma forte interação com moléculas carregadas negativamente, sem alterar a sua atividade (DOUNIGHI et al., 2012).

Estudos realizados por Oliveira et al. (2016) utilizando nanopartículas de quitosana contendo S-nitroso-MSA como doador de NO em plantas de milho submetidas a estresse salino, indicaram maior tolerância das plantas tratadas em relação as tratadas com S-nitroso-MSA livre e as que não receberam tratamento.

Devido ao grande potencial dos nanodoadores de NO na agricultura, há a necessidade de estudos quanto ao uso no condicionamento de sementes e plântulas, para melhorar a germinação e crescimento inicial em mudas, para aumentar a tolerância ao estresse, em micropropagação para melhorar o desenvolvimento de plântulas e endurecimento, e na floricultura e pós-colheita de frutos para aumentar a vida útil de flores e frutos (SEABRA, 2022).

### 3 ARTIGO A: DESEMPENHO GERMINATIVO DO FEIJÃO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALUMÍNIO

#### 3.1 RESUMO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura muito importante para o Brasil, com o país sendo o segundo maior produtor mundial dessa leguminosa, além do grão representar uma das bases da alimentação humana. Aproximadamente 90% das raízes do feijoeiro se encontram nos primeiros 30 cm do solo, de forma que a presença de alumínio tóxico no solo represente um fator limitante em grande parte das regiões de cultivo no Brasil. O objetivo do trabalho foi identificar uma cultivar de feijão comum do grupo comercial carioca, com características de tolerância à presença do alumínio, assim como identificar a concentração de alumínio prejudicial à germinação e ao crescimento inicial. O experimento foi realizado sob delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5 com 4 repetições, sendo duas cultivares de feijão: IPR Quero-quero e IPR Sabiá, e cinco concentrações de alumínio: 0, 5, 10, 15, 20 mmol L<sup>-1</sup>. As variáveis analisadas foram: primeira contagem de germinação, total de sementes germinadas, plântulas anormais e sementes mortas. Foram mensurados também o comprimento de raiz e parte aérea, e a massa seca de raiz e parte aérea. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade, homogeneidade e análise de variância, a 5% de probabilidade, com teste F para comparação das cultivares e regressão polinomial para as concentrações de alumínio. Todas as concentrações contendo alumínio apresentaram efeito negativo no processo de germinação e crescimento, evidenciando as características de toxicidade a partir da concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sup>3+</sup>. A cultivar IPR Sabiá, quando comparada à IPR Quero-quero, apresentou maiores médias, mostrando ser mais tolerante ao efeito de toxicidade do alumínio.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L.; acidez do solo; germinação.

#### 3.2 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta leguminosa que pertence à família *Fabaceae* e tem origem nas Américas, onde foram encontrados vestígios arqueológicos datados de cerca de 10.000 anos (BITOCCHI et al., 2012). Os grãos do feijão fazem parte do hábito alimentar dos brasileiros e de populações de muitos países em desenvolvimento, caracterizando-se como um alimento rico em proteínas, vitaminas, carboidratos, fibras, antioxidantes e minerais, principalmente o ferro e o zinco. Dessa forma, o feijão é considerado um dos alimentos essenciais de grande importância no Brasil (SCHMUTZ et al., 2014; REZENDE et al., 2018).

No campo, uma série de fatores pode afetar a germinação e o ciclo

do feijoeiro, sendo eles fatores bióticos como pragas, plantas invasoras, bactérias ou vírus, além de fatores abióticos como condições climáticas adversas, incluindo temperaturas altas ou baixas, déficit hídrico e estresses edáficos causados pela deficiência ou toxicidade de algum nutriente encontrado no solo (ASSEFA et al., 2019). No Brasil, é comum o cultivo do feijão em regiões com altos teores de alumínio no solo, pois essas regiões possuem solos de textura arenoso-argilosa, ideais para o sistema radicular do feijão. No entanto, a maior parte desses solos é caracterizada como ácida, cerca de 70% dos solos brasileiros, o que interfere na disponibilidade de nutrientes para as plantas, podendo afetar a produtividade em até 40% (QUAGGIO, 2000).

Sendo o feijoeiro uma planta sensível à presença de alumínio no solo, quando cultivada sob concentrações tóxicas de alumínio apresenta alterações morfológicas, como crescimento anormal de folhas e enrolamento de folhas jovens, enquanto nas raízes, apresentam comprimento reduzido, atrofiadas, grossas e quebradiças. Essas condições reduzem a capacidade de absorção de água e nutrientes, e podem levar à inibição das enzimas que participam do processo de respiração, transporte e captura dos nutrientes. Assim, na presença do alumínio, as raízes ficam pouco desenvolvidas e com baixa capacidade de capturar água e nutrientes em maiores profundidades (TÓTH et al., 2017; FIDELIS et al., 2018).

Alguns genótipos vêm sendo estudados, observando a variabilidade em relação à tolerância a toxicidade de alumínio, destacando a importância de um genótipo que seja tolerante, já que para os produtores, a escolha de uma cultivar que se adapte melhor a essas condições irá garantir um rendimento melhor da safra com o incremento da produtividade (FIDELIS et al., 2018). A presença de variabilidade genética para a tolerância à toxicidade de alumínio também foi observada por Santos Neto et al. (2020). Esses autores identificaram genótipos de diferentes grupos comerciais com crescimento e desenvolvimento menos afetados pela toxicidade do  $Al^{3+}$ , dentre elas as cultivares IPR Quero-quero (grupo carioca), BRS Esplendor (grupo preto), KID 44 (grupo vermelho) e WLine 5 (grupo branco).

Com o desenvolvimento de plantas mais adaptadas e observando a importância socioeconômica dessa cultura, este trabalho teve como objetivo identificar em duas cultivares de feijão comum do tipo carioca, IPR Quero-quero e IPR Sabiá, características de tolerância à presença do alumínio, assim como identificar a concentração prejudicial à germinação e desenvolvimento de plantas de feijão. A

cultivar IPR Quero-quero já foi avaliada na contração de  $4 \text{ mmol L}^{-1}$  de alumínio por Santos Neto et al. (2020) e caracterizada como tolerante. Para a cultivar IPR Sabiá ainda não há estudos envolvendo suscetibilidade ao alumínio, mesmo sendo a cultivar de feijão comum do grupo carioca mais cultivada no Brasil (PARANÁ, 2023)

### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de laboratório no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, em Londrina – PR.

Foram avaliados o desempenho germinativo de duas cultivares de feijão em resposta aos tratamentos contendo diferentes concentrações de alumínio, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $5 \times 2$  com 4 repetições, sendo cinco concentrações de alumínio: 0, 5, 10, 15 e  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  na forma de cloreto de alumínio e duas cultivares de feijão do grupo comercial carioca: IPR Sabiá e IPR Quero-quero. Ambas as cultivares apresentam características semelhantes, como grupo comercial, hábito de crescimento indeterminado do tipo ereto e ciclo médio de 90 dias, da emergência à colheita. As sementes utilizadas apresentaram percentual de germinação de 95% e 94% para IPR Sabiá e IPR Quero-quero, respectivamente.

Os testes de germinação e de crescimento foram conduzidos em rolos de papel *germitest*. Os tratamentos com as cinco concentrações de cloreto de alumínio foram aplicados via água destilada, utilizada para umedecer os rolos de papel, com volume de água correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco, conforme metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para aumentar a mobilidade e toxicidade do alumínio nas sementes, o pH da água destilada foi ajustado para 4, com o auxílio de um pHmetro e adição gota a gota de HCl.

Para o teste de germinação, foram avaliadas as seguintes variáveis: primeira contagem (PC), germinação total (G), plântulas anormais (ANOR) e sementes mortas (MORT), todas expressas em porcentagem (%). As variáveis de crescimento inicial das plântulas foram: comprimento da parte aérea e da raiz (CPA e CR), expressas em centímetros (cm), e massa seca da parte aérea e da raiz (MSPA e MSR), expressas em miligramas (mg). Foram realizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento para o teste de germinação e quatro repetições de 20 sementes por tratamento para o teste de crescimento.

O experimento foi conduzido em germinador de sementes do tipo Mangelsdorf, com temperatura constante de 25°C. Após 5 dias da montagem do experimento, foi avaliado o vigor das sementes em seus respectivos tratamentos por meio da variável de PC. No 9º dia após o início do teste, foram avaliadas as variáveis de G, ANOR e MORT, mediante a contabilização das sementes remanescentes. No mesmo dia, foram mensuradas as variáveis de CPA e CR, com o auxílio de uma régua milimetrada, e a separação da parte aérea e da raiz das plântulas para secagem em estufa de ventilação a 65°C por 72 horas, a fim de obter a MSPA e a MSR, por meio de pesagem com o uso de balança analítica.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade, análise de variância com comparação de médias pelo teste F para o fator cultivar e regressão polinomial para o fator concentração de alumínio a 5% de significância. As análises foram realizadas por meio do programa SISVAR, desenvolvido por Daniel Furtado Ferreira, da UFPA.

### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na análise de variância, foi observada interação significativa entre os fatores para a variável de primeira contagem, germinação total, número de plântulas anormais, número de sementes mortas e comprimento da parte aérea de plântula (Tabela 1).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância, para as variáveis de desempenho germinativo e de crescimento de duas cultivares de feijão, sob estresse por alumínio em cinco concentrações.

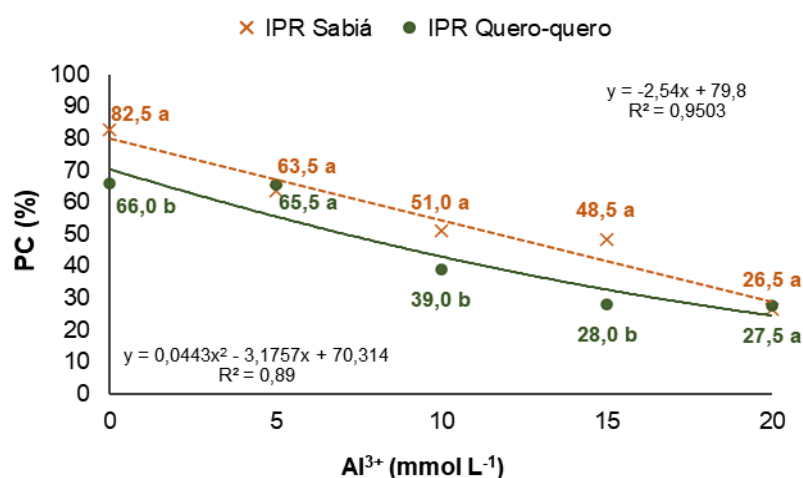
FATORES	GL	Q.M							
		PC	G	ANOR	MORT	CPA	CR	MSPA	MSR
CULTIVAR (C)	1	211.6 **	1322.5 **	270.4 **	3.025 *	20.7 **	9.8 <sup>ns</sup>	0.02232 **	0.0134 **
DOSE (D)	4	745.1 **	16.29.5 **	398.8 **	0.350 <sup>ns</sup>	60.6 **	141.9 **	0.00302 **	0.0008 <sup>ns</sup>
C x D	4	52.3 **	93.2 **	13.6 *	2.025 *	14.5 **	6.6 <sup>ns</sup>	0.0008 <sup>ns</sup>	0.0010 <sup>ns</sup>
Resíduo	30	5.9	17.90	4.43	0.541	1.93	2.6	0.0005	0.007
CV (%)		9.8	5.5	19.41	109.0	18.43	22.07	11.63	31.91
Média geral		24.90	76.95	10.85	0.675	7.5	7.38	0.2018	0.0827

<sup>ns</sup>: não significativo, \*: significativo a 5%, \*\*: significativo a 1%, primeira contagem (PC), germinação (G), plântulas anormais (ANOR), sementes mortas (MORT), comprimento de plântulas e de raiz (CPA e CR), massa seca de parte aérea e raiz (MSPA e MSR).

Para as variáveis de comprimento de raiz, massa seca da parte aérea e massa de seca de raiz não houve efeito significativo na interação dos fatores, porém houve efeito isolado para o fator dose e/ou cultivar.

Na variável de primeira contagem (PC) foi observado um decréscimo linear no número de sementes germinadas com o aumento das concentrações de alumínio nos tratamentos. Já para o desempenho das cultivares, a cultivar IPR Sabiá obteve um desempenho superior quando comparada a IPR Quero-quero, mesmo na testemunha em que o tratamento não possuía a presença do alumínio tóxico, diferindo-se estatisticamente (Figura 1).

**Figura 1** – Análise de regressão para variável de primeira contagem (PC) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.



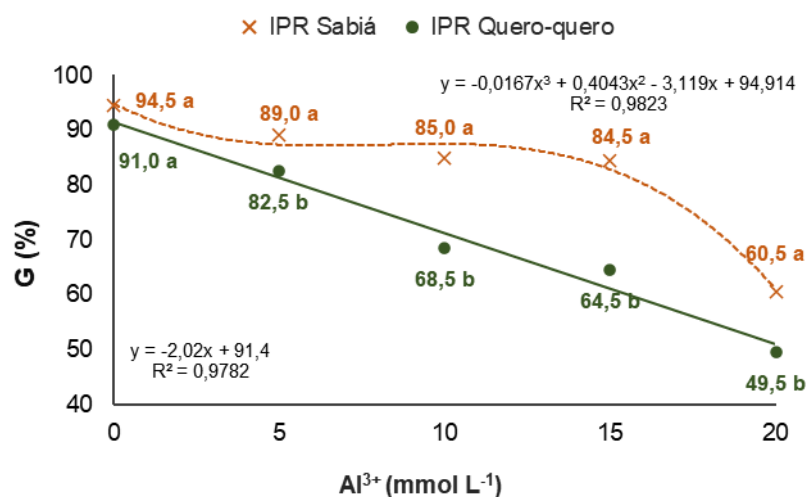
Para a variável de germinação total de sementes (G) observa-se no tratamento controle (sem alumínio) que as duas cultivares não diferiram entre si, mas conforme houve aumento das concentrações de alumínio, a cultivar IPR Quero-quero apresentou um decréscimo linear na taxa de germinação (p-valor <0,0001). Para a cultivar IPR Sabiá, foi necessário realizar um ajuste polinomial de terceiro grau (p-valor = 0.0008), para representar melhor o desempenho germinativo ao longo das doses, indicando pouca variação até a concentração de 15 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 2).

A cultivar IPR Sabiá demonstrou maior tolerância ao alumínio quando comparada a IPR Quero-quero, pois mesmo tendo a velocidade de germinação afetada com um decréscimo linear, similar para as duas cultivares na variável de PC, a IPR Sabiá apresentou certa tolerância nas concentrações mais baixas de alumínio, mantendo uma estabilidade moderada até a concentração de 15 mmol L<sup>-1</sup> para a variável de G (Figura 2).

Roshani et al (2014), avaliou cinco cultivares de feijão em três concentrações, sendo 30, 40 e 50 mmol L<sup>-1</sup> de nitrato de alumínio, e identificou

redução significativa na taxa de germinação em todas as cultivares, tendo uma redução maior conforme o aumento das concentrações.

**Figura 2** – Análise de regressão para variável de germinação total (G) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.

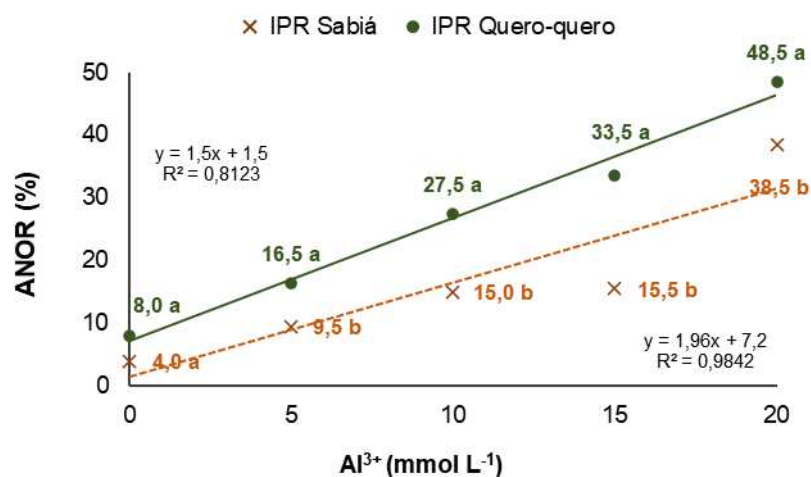


Diversos estudos têm relatado uma redução na germinação de sementes quando expostas ao estresse causado por alumínio e outros metais pesados em diversas espécies de plantas (INOSTROZA-BLANCHETEAU et al., 2012; PANDA et al., 2009; ATICI et al., 2005).

Isso ocorre pois em condições ideais para germinação, o teor de giberelina, incluindo GA<sub>3</sub>, aumenta nas sementes durante o processo de germinação. No entanto, em situações de estresse por metais, observa-se uma diminuição do conteúdo de GA<sub>3</sub> nas sementes germinantes (ATICI et al., 2005). Além disso, o estresse por metais tende a reduzir a absorção de água e a inibir ou destruir a atividade das estruturas proteicas por meio da ligação dos metais pesados a grupos sulfidrila (CAPUANA, 2011). Mihoub e colaboradores (2005), observaram que alguns metais pesados reduzem a decomposição das reservas, diminuindo a atividade da alfa-amilase e da fosfatase ácida, o que pode prejudicar a germinação das sementes.

Para a variável de plântulas anormais (ANOR), houve um aumento crescente linear (p-valor <0,0001) para a cultivar IPR Quero-quero, sendo proporcional ao aumento da concentração de alumínio, atingindo até 48,5% de plântulas anormais na concentração de 20 mmol L<sup>-1</sup>. Para IPR Sabiá, também houve um aumento linear significativo (p-valor <0,0001) das plântulas ANOR na maior concentração avaliada, com 38,5%, porém não houve variação nas doses mais baixas.

**Figura 3** – Análise de regressão para variável de plântulas anormais (ANOR) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.



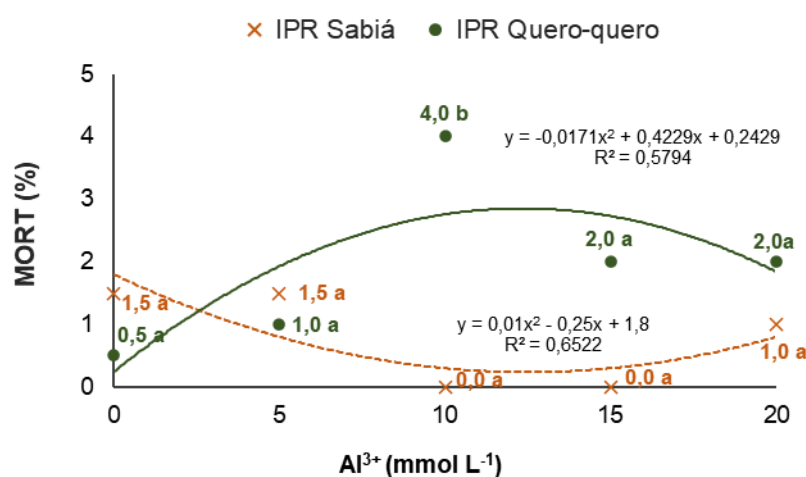
O alto número de plântulas anormais em função do aumento das doses de alumínio ocorreu pela má formação das raízes caracterizado pelo encurtamento da raiz principal e escurecimento do sistema radicular (Figura 4). Cakmak e Horst (1991) concluíram que esses sintomas podem ter ocorrido devido ao estresse oxidativo, que faz parte da expressão de toxicidade dos metais pesados nas raízes, aumentando a peroxidação lipídica pela superprodução de ROS, induzindo a degradação de membranas e, conseqüentemente, levando a morte celular.

**Figura 4** – Plântulas de feijão germinadas sob efeito de toxidez por alumínio em uma concentração de 15 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sup>3+</sup>, apresentando sintomas de toxidez como encurtamento da raiz principal e escurecimento do sistema radicular.



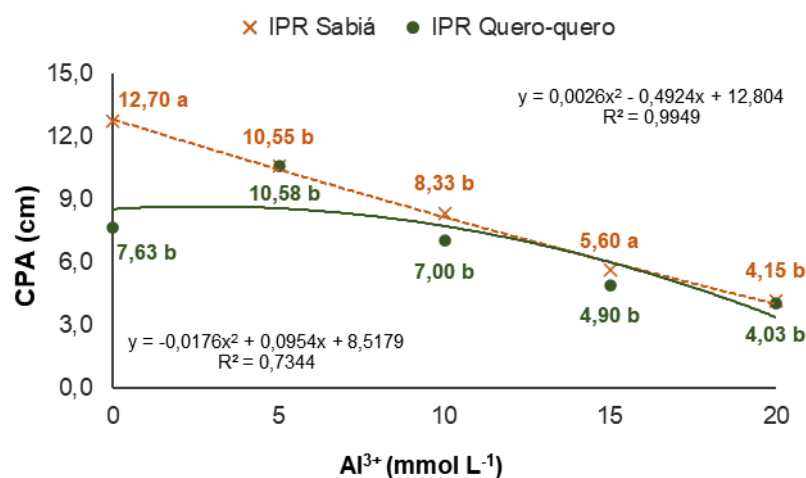
Para o número de sementes mortas (MORT), a cultivar IPR Sabiá apresentou um valor constante com relação ao controle e a dose mais baixa de 5 mmol L<sup>-1</sup>, com uma queda na média de sementes mortas nas contrações de 10 e 15 mmol L<sup>-1</sup>. Mesmo sendo significativo para o fator doses de Al<sup>3+</sup>, não foi possível ajustar uma regressão significativa. O ajuste quadrático para apresentar o comportamento das doses foi não significativa, com p-valor de 0,2135. Para a cultivar IPR Quero-quero houve aumento na dose intermediária de 10 mmol L<sup>-1</sup>, apresentando uma curva de segundo grau significativa com p valor de 0,0373 (Figura 5).

**Figura 5** – Análise de regressão para variável sementes mortas (MORT) em função das concentrações de alumínio as para duas cultivares.



Com relação ao desempenho do crescimento das plântulas germinadas, observou-se uma diferença significativa na variável de comprimento de parte aérea (CPA). Para a cultivar IPR Sabiá, os tratamentos com presença de alumínio mostraram médias inferiores em comparação ao tratamento controle, com decréscimo linear na variável em questão (p-valor <0,0001), concomitante com o aumento das doses de alumínio. Por outro lado, para a cultivar IPR Quero-quero, o tratamento com a dose de 5 mmol L<sup>-1</sup> de alumínio apresentou uma média superior em relação aos demais tratamentos, incluindo o controle, sendo necessário apresentar um modelo de regressão quadrática com p-valor de 0.0242 (Figura 6).

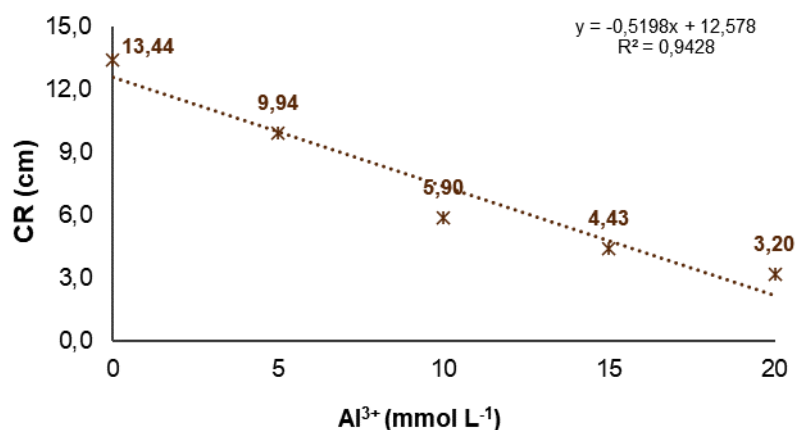
**Figura 6** – Análise de regressão para a variável de comprimento de parte aérea (CPA) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.



Para a variável comprimento de raiz (CR) não houve interação entre os fatores, tendo efeito significativo dos tratamentos apenas para o fator de doses. As cultivares, apresentaram o controle estatisticamente superior aos demais tratamentos, apresentando um decréscimo linear significativo ( $p$ -valor  $<0,0001$ ) no CR, conforme o aumento das doses de alumínio.

Em trabalho realizado por Santos Neto e colaboradores (2020) foi observado um bom desempenho da cultivar IPR Quero-quero para variáveis de crescimento e desenvolvimento inicial, principalmente para a variável CR, sob condição de toxidez por  $Al^{3+}$  a  $4 mmol L^{-1}$ .

**Figura 7** – Análise de regressão para a variável de comprimento de raiz (CR) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.

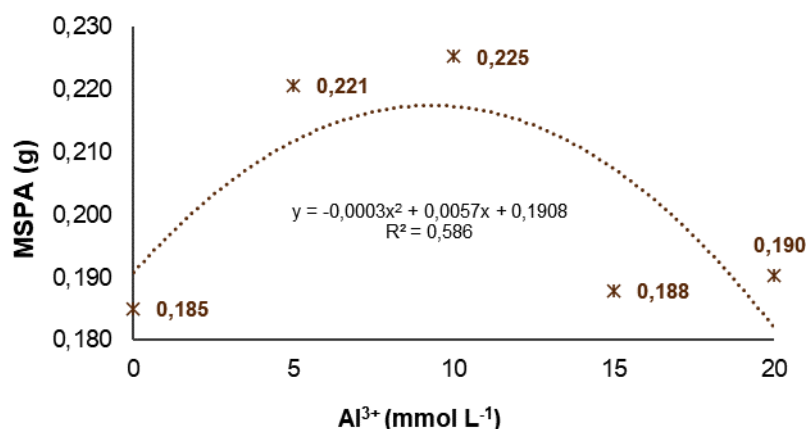


Esse resultado já era esperado, pois Zeffa et al (2011) em estudo sobre a influência do alumínio nas raízes de genótipos de feijão observaram alteração no desenvolvimento das raízes, resultando em raízes menores, mais grossas e com menos ramificações finas. Essas alterações podem ser explicadas pela inibição do processo de alongamento e divisão celular provocada pela toxidez do alumínio em altas concentrações, com os mesmos efeitos também sendo observados por Amaral et al. (2000).

Enquanto Tabuchi e Matsumoto (2001) trabalharam com o efeito do alumínio nas raízes de trigo e constataram que o alumínio inibe o crescimento radicular alterando o metabolismo da parede celular, tornando a parede celular espessa e rígida, resultando na diminuição do alongamento radicular em cultivares sensíveis.

Quanto a variável massa seca de parte aérea (MSPA), não houve interação significativa entre os fatores avaliados, houve significância para cada fator isolado. Para o fator doses, todos os tratamentos contendo alumínio obtiveram média superior ao controle, tendo o comportamento representador por um ajuste quadrático significativo, com p-valor= 0,0015, com ponto de máxima em 9,5 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 8). O aumento da MSPA em condição de toxidez por alumínio, corrobora com o trabalho de Tóth et al. (2021), em que foi avaliado sintomas de toxidez em genótipos de feijão na concentração de 20 µM de AlCl<sub>3</sub>.

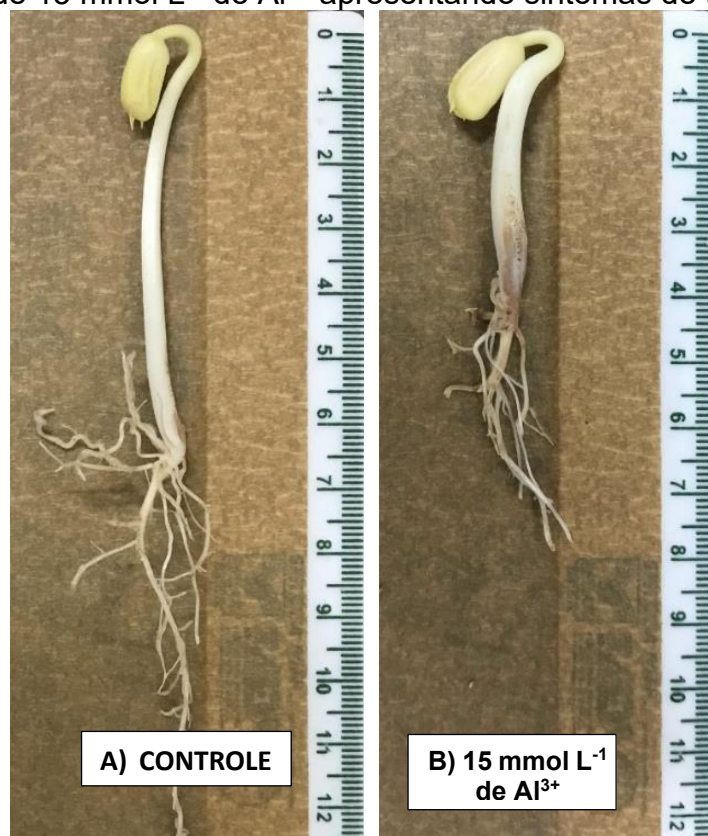
**Figura 8** – Análise de regressão para a variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em função das concentrações de alumínio para duas cultivares.



O aumento da média de MSPA observado nos tratamentos contendo alumínio, ocorrendo mesmo com a redução do comprimento, pode ser explicado pelo

engrossamento do hipocótilo da planta (Figura 9).

**Figura 9** – Plântula sem efeito de toxidez por alumínio (A) e planta submetida a uma concentração de  $15 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$  apresentando sintomas de toxidez (B).



Quanto aos desempenhos das cultivares para a variável MSPA, a cultivar IPR Quero-quero apresentou média significativamente maior que a IPR Sabiá. O mesmo ocorreu para a massa seca de raiz (MSR), não houve efeito significativo do alumínio para interação entre os fatores doses e cultivar, sendo significativo apenas para o fator cultivar de forma isolada, em que a cultivar IPR Quero-quero apresentou média superior à IPR Sabiá (Tabela 2).

**Tabela 2** – Resultados de comparação de médias para as duas cultivares pelo teste F, germinadas em condição de estresse em cinco concentrações de alumínio.

Variáveis	MÉDIAS DAS CULTIVARES	
	IPR Sabiá	IPR Quero-quero
<b>MSPA (g)</b>	0,178 <b>b</b>	0,225 <b>a</b>
<b>MSR (g)</b>	0,064 <b>b</b>	0,101 <b>a</b>

Médias de letras distintas na mesma linha, diferem-se estatisticamente pelo teste F.

Entre as duas cultivares, IPR Sabiá apresentou um desempenho superior a cultivar IPR Quero-Quero quanto ao desempenho germinativo, que se mostrou mais sensível aos efeitos do alumínio. Assim, a cultivar IPR Sabiá é mais indicada para regiões que possuem solos com alto teor de alumínio, enquanto a IPR Quero-Quero, pode ser usada em ensaios para indicar tolerância e desenvolver tratamentos de atenuação desse estresse pela cultura do feijão.

Todas as doses de alumínio testadas apresentaram efeito, tanto na germinação como no crescimento de plântulas, sendo mais notório a partir da concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup>, a dose mais alta de 20 mmol L<sup>-1</sup> causa efeito severo quanto a velocidade germinação, germinação total e crescimento da parte aérea, o que pode inviabilizar algumas avaliações em experimentos com o alumínio.

### 3.5 CONCLUSÃO

Sob efeito de toxidez por alumínio, a cultivar IPR Sábua possui melhor desempenho germinativo quando comparada a IPR Quero-Quero, demonstrando maior tolerância na germinação.

Quanto ao crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas, a cultivar IPR Quero-Quero apresenta maiores médias quando comparada a IPR Sabiá.

Todas as concentrações contendo alumínio apresentaram efeito negativo no processo de germinação e crescimento, apresentando uma resposta mais prejudicial e evidenciando as características de toxidez a partir da concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sup>3+</sup>.

### 3.6 REFERÊNCIAS

AMARAL, J. A. T.; CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B. Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a composição de metabólitos nitrogenados e de carboidratos em *Stylosanthes guianensis* e *S. macrocephala*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.2, p. 313-320, 2000.

ASSEFA, T.; MAHAMA, A. A.; BROWN, A. V.; CANNON, E. K. S.; RUBYOGO, J. C.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; CANNON, S. B. A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v. 39, n. 2, p. 23, 2019.

ATICI, Ö.; GULERAY, A.; PEYAMI, B. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 215-222,

2005.

BITOCCHI, E.; NANNI, L.; BELLUCCI, E.; ROSSI, M.; GIARDINI, A.; ZEULI, P. S.; LOGOZZO, G.; STOUGGARD, J.; MCCLEAN, P.; ATTENE, G.; PAPA, R. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 14, p. 788–796, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, p. 364, 2009.

CAKMAK, I.; HORST, W. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, p. 463-468, 1991.

CAPUANA, M. Heavy metals and woody plants - biotechnologies for phytoremediation. **Iforest - Biogeosciences and Forestry**, v. 4, p. 7-15, 2011.

FIDELIS, R. R.; FERNANDES, P. S. M.; MOREIRA, E. R.; TAVARES, T. C. O. Identificação De Genótipos De Feijoeiro Comum Tolerantes Ao Alumínio. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 26–33, 2018.

INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; RENGEL, Z., ALBERDI, M. R., LUZ MORA, M.; AQUEA, F.; ARCE-JOHNSON, P.; REYES-DÍAZ, M. M. Molecular and physiological strategies to increase aluminum resistance in plants. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 2069 – 2079, 2011.

PARANÁ – SECRETARIA DA COMUNICAÇÃO. **IDR-PR é responsável por duas das cultivares de feijão mais comercializadas no Brasil. Agência estadual de notícias**, 17 de julho de 2023. Disponível em: <https://www.aen.pr.gov.br/Noticia/IDR-PR-e-responsavel-por-duas-das-cultivares-de-feijao-mais-comercializadas-no-Brasil>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2024.

MIHOUB, A.; ABDELILAH, C.; EZZEDINE, F. Biochemical changes associated with cadmium and copper stress in germinating pea seeds (*Pisum sativum* L.). **Comptes rendus biologies**, v. 328, n. 1, p. 33-41, 2005.

PANDA, S. K.; FRANTIŠEK, B.; HIDEAKI, M. Aluminum stress signaling in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, p. 592 – 597, 2009.

QUAGGIO, J. A. **Acidez e calagem em solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2000.

REZENDE, A. A.; PACHECO, M. T. B.; SILVA, V. S. N.; FERREIRA, T. A. P. C. Nutritional and protein quality of dry brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 421–427. 2018.

ROSHANI, M.; HOSSEIN, A.; SAKINEH, S. Effect of Aluminium Stress on Germination and Mineral Nutrition of Kidney Bean Cultivars with Different Sensitivity to Aluminium. **Biosciences, Biotechnology Research Asia**, v. 11, p. 545-553, 2014.

SANTOS NETO, J.; DELFINI, J.; SILVA, T. W.; HIROSE, A. A.; NOVAIS, J. M.;

GONÇALVES, L. S. A.; MODA-CIRINO, V. Response of common bean cultivars and lines to aluminum toxicity. **Agronomy**, v. 10, n. 2, p. 1–15, 2020.

SCHMUTZ, J.; MCCLEAN, P. E.; MAMIDI, S.; WU, G. A.; CANHÃO, S. B.; GRIMWOOD, J.; JENKINS, J.; SHU, S.; QIJIAN, C.; CHÁVARRO, C.; TORRES-TORRES, M.; GEFFROY, V.; MAFI MOGHADDAM, S.; GAO, D.; ABERNATHY, B.; BARRY, K.; BLAIR, M.; TIJOLO, M.; CHOVIATIA, M.; GEPTS, P.; GOODSTEIN, D. M.; GONZALES, M.; HELLSTEN, U.; HYTEN, D. L.; JIA, G.; KELLY, J. D.; KUDRNA, D.; LEE, R.; RICHARD, M. M. S.; MIKLAS, P. N.; OSORNO, J. M.; RODRIGUES, J.; THAREAU, V.; URREA, C. A.; WANG, M.; YU, Y.; ZHANG, M.; ASA, H. U.; CREGAN, P. B.; ROKHSAR, D. S.; JACKSON, S. E. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature Genetics**, v. 46, n. 7, p. 707–713, 2014.

TABUCHI, A.; MATSUMOTO, H. Changes in cell wall properties of wheat roots (*Triticum aestivum*) during aluminum-induced growth inhibition. **Physiologia plantarum**, v.112, n. 3, p. 353-358, 2001.

TÓTH, B.; GRUSAK, M. A. Aluminum-toxicity responses in *Phaseolus vulgaris* L. genotypes. **Columella**, v. 4, n. 1, p. 95–100, 2017.

TÓTH, B.; MOLOI, M. J.; SZŐKE, L.; DANTER, M.; GRUSAK, M. A. Cultivar differences in the biochemical and physiological responses of common bean to aluminum stress. **Plants**, v. 10, p. 2097, 2021.

ZEFFA, D. M.; SANDOLI FILHO, R.; MODA-CIRINO, V.; PAVAN, M. A. **Variabilidade Genética Para Tolerância à Toxidez de Alumínio em Cultivares e Linhagens Promissoras de Feijão**. UNOPAR Cient. Exatas Technol., Londrina, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2011.

## 4 ARTIGO B: CONCENTRAÇÕES DE DOADOR DE ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO SUBMETIDO A ESTRESSE POR ALUMÍNIO

### 4.1 RESUMO

O feijão apresenta um sistema radicular superficial, tornando-o suscetível ao estresse decorrente da presença de alumínio no solo. Esse elemento, ao entrar em contato com as raízes, compromete seu desenvolvimento e a capacidade de absorção de água e nutrientes essenciais. O uso de protetores no tratamento de sementes, como o óxido nítrico (NO), pode ser uma alternativa para superar essa adversidade. O NO se encontra em estado gasoso e a nanoencapsulação de seus doadores viabiliza sua aplicação na agricultura, reduzindo a degradação e otimizando sua eficácia no local de ação. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito protetivo do óxido nítrico nanoencapsulado, aplicado em diferentes concentrações, sobre o desempenho germinativo e o crescimento inicial de plantas de feijão submetidas a estresse por alumínio. O trabalho foi realizado em condições de laboratório, seguindo um delineamento inteiramente casualizado e com esquema fatorial 10x2 com quatro repetições. As sementes de feijão foram tratadas com nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (GSNO) em dez concentrações: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em tratamentos com e sem estresse por alumínio. As variáveis foram avaliadas para determinar o desempenho germinativo e o desenvolvimento inicial das plântulas. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade, análise de variância e regressão polinomial para as concentrações, com 5% de significância. Em ambiente de estresse com alumínio a 10  $\text{mmol L}^{-1}$ , os tratamentos com nanopartículas contendo GSNO foram prejudiciais à germinação e ao crescimento do feijão em todas as concentrações, aumentando o efeito de toxidez do alumínio proporcionalmente com o aumento das concentrações. Na condição sem estresse durante a germinação e crescimento, as doses mais baixas foram prejudiciais. Por outro lado, nas doses mais altas, houve melhora no desempenho, mas não superando o tratamento controle (sem aplicação de GSNO nanoencapsulado).

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L.; estresse abiótico; germinação.

### 4.2 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais importantes cultivadas e consumidas em todo o mundo, com uma produção anual estimada em cerca de 12 milhões de toneladas (BANSAL, 2019). Entre as razões do sucesso desta cultura está o seu interesse nutricional, com alto teor de proteínas,

fibras alimentares, carboidratos complexos, vitaminas, minerais e fitoquímicos, que exercem efeitos protetores contra diversas doenças (HAYAT, 2014).

Diversos elementos, tanto de origem biótica quanto abiótica, desempenham um papel significativo no crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas de feijão. Os estresses bióticos podem surgir devido a infecções causadas por fungos, bactérias, vírus e ataques de pragas e plantas invasoras. Por outro lado, os estresses abióticos têm origem em condições climáticas adversas, como a escassez de água, variações extremas de temperatura, deficiência nutricional e a presença de metais pesados (ASSEFA et al., 2019). Estes fatores abióticos podem impor restrições ao desenvolvimento do feijão, que possui requisitos agroclimáticos específicos para alcançar um crescimento ótimo. Portanto, compreender as respostas da cultura a esses fatores é essencial para aumentar a produção e minimizar possíveis perdas (PEREIRA et al., 2014).

O excesso de alumínio representa toxicidade para as plantas de feijão, inibindo de maneira significativa o desenvolvimento das raízes e reduzindo seu alongamento, comprometendo a eficiência na absorção de água e nutriente pelas raízes. Considerando que o sistema radicular do feijão é superficial em comparação com outras culturas, ele se torna especialmente sensível aos efeitos do déficit hídrico e das altas temperaturas. Isso aumenta a taxa de transpiração e, conseqüentemente, a demanda por água, levando a perdas na produção de vagens e no enchimento dos grãos, principalmente em condições de toxidez causada pelo alumínio no solo (PEREIRA et al., 2014, TÓTH et al., 2017).

Diversas pesquisas indicam que o óxido nítrico (NO) desempenha um papel crucial na regulação de processos associados ao crescimento e desenvolvimento de plantas. Em sementes, sua atuação se destaca na indução do processo germinativo e na inibição da respiração após a embebição, enquanto nas raízes, estimula o alongamento e a formação de raízes adventícias (BETHKE et al., 2004).

A aplicação de NO em plantas emerge como uma estratégia para proteger e mitigar os efeitos de diversos estresses bióticos e abióticos. Estudos envolvendo diferentes espécies vêm evidenciando o papel do NO em resposta ao estresse provocado pelo alumínio (WANG e YANG, 2005; SUN et al., 2014). Estudos de Wang et al. (2013) indicam que a aplicação exógena de NO na forma de nitroprussiato melhorou a tolerância de plantas a estresse causados por metais

pesados.

O tratamento direto das plantas com NO representa um desafio técnico devido à sua natureza gasosa. Além disso, os doadores de NO são compostos instáveis suscetíveis à decomposição, especialmente em condições de alta temperatura e exposição à luz. Isso pode resultar em uma liberação rápida e descontrolada de NO, levando a efeitos tóxicos e redução da eficácia (SEABRA; DURÁN, 2010).

Neste cenário, uma das estratégias mais promissoras na agricultura é a nanoencapsulação de agroquímicos para aprimorar sua eficácia no fornecimento às plantas (FINCHEIRA et al., 2021). Esse avanço pode trazer benefícios significativos, permitindo o desenvolvimento de sistemas carreadores que melhoram a estabilidade físico-química dos agroquímicos e regulam sua liberação, garantindo a entrega precisa dos ingredientes ativos no momento e local apropriados. Isso não apenas reduz a exposição a agentes externos, mas também minimiza as perdas decorrentes de degradação, lixiviação e volatilização (PÉREZ-DE-LUQUE, 2017).

Segundo Seabra et al. (2015), a nanoencapsulação dos doadores de NO surge como uma estratégia promissora para proteger essas moléculas da decomposição e degradação, permitindo uma liberação controlada, esse método de tratamento pode estender o período de ação do NO, contribuindo para uma aplicação mais eficaz. Sendo necessário mais estudos quanto a sua aplicabilidade no tratamento de diferentes culturas submetidas à condição de estresse.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho germinativo e o crescimento do feijão em resposta a diferentes concentrações de óxido nítrico (NO), utilizando S-Nitrosoglutationa (GSNO) nanoencapsulada com quitosana, em condições de estresse por alumínio.

#### 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, em Londrina – PR. Em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 10x2, com quatro repetições. Foram testadas dez concentrações de nanopartículas contendo S-nitroglutaciona (GSNO) como doador de NO, incluindo a testemunha: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e duas condições de ambiente sendo sem e com estresse por alumínio.

As soluções com as nanocapsulas de quitosana contendo o doador de NO, foram fornecidas pelo Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH) pertencente à Universidade Federal do ABC, São Paulo. As nanopartículas foram preparadas utilizando o método de gelificação ionotrópica, conforme descrito por Calvo et al. (1997), que envolve a mistura de quitosana (CS) e glutathiona (GSH) em um meio ácido. A mistura de CS/GSH foi adicionada a uma solução de GSNO na proporção de 3:1 de CS/GSH e GSNO, resultando na formação da suspensão de nanopartículas contendo o doador de óxido nítrico. Antes do tratamento das sementes de feijão, foi adicionado nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) à solução de nanopartículas de quitosana para nitrosar os grupos tiol livres do GS, utilizando uma proporção de 13,6 mg para cada 1 ml de GSNO.

As sementes de feijão da cultivar IPR Quero-quero, utilizadas no experimento, foram adquiridas na UBS do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), localizada em Londrina – PR. As sementes foram contadas e pesadas em porções adequadas para os testes de germinação e comprimento, em seguida colocadas em potes de polietileno com tampa, e submetidas ao tratamento de imersão em 10 ml de solução, nas seguintes concentrações: 0 (apenas água destilada), 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de GSNO, sendo então agitadas a cada trinta minutos, até a embebição completa das sementes, que ocorreu em 3 horas.

Os testes de germinação e crescimento foram realizados em rolos de papel germitest, seguindo as diretrizes estabelecidas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O estresse por alumínio foi simulado por meio da solução de água destilada utilizada para umedecer os rolos de papel, na água foi acrescentado cloreto de alumínio na concentração de 10mmol  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$ , foi realizado uma acidificação da solução por meio de HCl até obter um pH 4,0, com o objetivo de disponibilizar o alumínio para embebição e absorção pelas raízes.

Para a avaliação do processo de germinação, foram consideradas as seguintes variáveis: primeira contagem (PC), germinação total (G), incidência de plântulas anormais (ANOR) e sementes não viáveis (MORT), expressas em porcentagem (%). As variáveis relacionadas ao crescimento inicial das plântulas incluíram o comprimento da parte aérea e das raízes (CPA e CR), mensurados em centímetros (cm), além da massa seca da parte aérea e das raízes (MSPA e MSR), expressas em miligramas (mg). Cada tratamento foi repetido quatro vezes, utilizando

50 sementes por repetição para o teste de germinação e 20 sementes por repetição para o teste de crescimento.

O experimento foi realizado em um germinador de sementes do tipo *Mangelsdorf*, mantido a uma temperatura constante de 25°C. Após cinco dias da montagem do experimento, foi realizada uma avaliação do vigor das sementes em cada tratamento, utilizando a variável PC. No 9º dia após o início do teste, as variáveis de G, ANOR e MORT foram avaliadas por meio da contagem das sementes restantes. Nesse mesmo dia, foram mensurados os comprimentos da parte aérea e das raízes, com o auxílio de uma régua milimetrada, e as plântulas foram separadas para secagem em estufa de ventilação a 65°C por 72 horas, a fim de determinar a MSPA e a MSR, por meio de pesagem em balança analítica.

Os dados foram analisados quanto à normalidade, homogeneidade e comparados através de análise de variância (ANOVA) e regressão polinomial a 5% de significância. As análises foram conduzidas no software SISVAR, de Daniel Furtado Ferreira, da UFLA.

#### 4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o fator ambiente todas as variáveis analisadas, exceto sementes mortas e massa seca de raiz, tiveram resultados significativos. Já para o fator concentração, em que foi testado diferentes concentrações de GSNO nanoencapsulada, houve significância para todas as variáveis, exceto para de comprimento de raiz (CR) (tabela 1).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância, para as variáveis de desempenho germinativo e crescimento inicial de plântulas do tratamento de sementes de feijão, sob concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado, em condições sem e com estresse por alumínio.

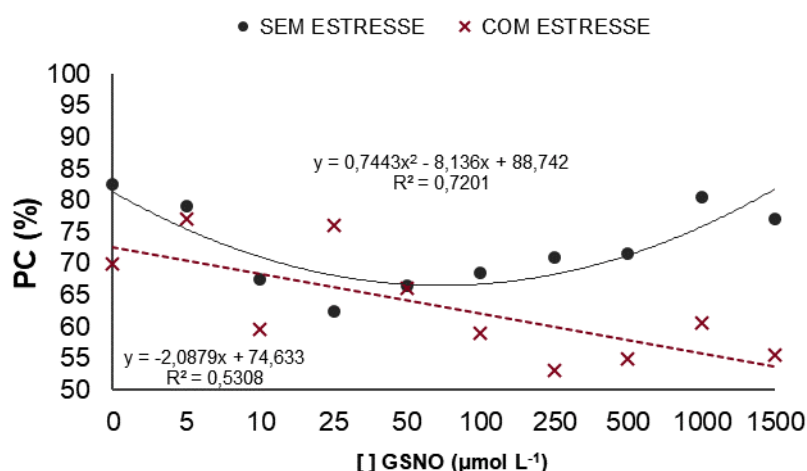
FATORES	GL	Q.M							
		PC	G	ANOR	MORT	CPA	CR	MSPA	MSR
<b>Ambiente (A)</b>	1	1602,0 *	387,2 *	5,4 *	0,0 <sup>ns</sup>	25,8 *	3,1 *	6,849 *	1,480 <sup>ns</sup>
<b>Concentração (C)</b>	9	260,4 *	163,1 *	2,6 *	1,4 *	18,5 *	0,1 <sup>ns</sup>	0,157 *	1,248 *
<b>A x C</b>	9	296,2 *	86,9 *	1,1 *	0,6 <sup>ns</sup>	16,5 *	0,9 *	0,054 <sup>ns</sup>	0,897 <sup>ns</sup>
<b>Resíduo</b>		54,6	31,3	0,3	0,4	4,9	0,2	0,073	0,452
<b>CV (%)</b>		10,84	7,05	15,74	22,01	12,8	11,75	7,97	9,18
<b>Média geral</b>		68,18	79,3	12,32	8,15	17,1	14,59	11,15	53,84

<sup>ns</sup>: não significativo, \*: significativo a 5%, primeira contagem (PC), germinação (G), plântulas anormais (ANOR), sementes mortas (MORT), comprimento de plântulas e de raiz (CPA e CR), massa seca de parte aérea e raiz (MSPA e MSR).

Houve efeito significativo da interação ambiente e concentração para as variáveis primeira contagem, germinação total, plântulas anormais, comprimento de raiz e parte aérea, não tendo resultado significativo para as variáveis sementes mortas e de massa seca. Para as variáveis com efeito significativo da interação foi realizado o desdobramento dos tratamentos dentro de cada ambiente, apresentados em gráficos de regressão polinomial.

Para a variável primeira contagem (PC), em ambiente sem o efeito tóxico do alumínio, houve um ajuste quadrático sob p-valor <0,0001, com uma diminuição das médias nas concentrações mais baixas de NO até 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e, a partir dessa concentração, houve uma recuperação na porcentagem de germinação conforme a concentração dos tratamentos aumentavam, porém, não obtendo média maior que o controle. (Figura 1).

**Figura 1** – Análise de regressão das variáveis primeira contagem (PC) e germinação total (G) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.



Sob condição de estresse por alumínio, o controle (sem presença do NO) apresentou média superior aos tratamentos com NO, exceto para a concentração de 5 e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Tabela 2). Foi possível observar um decréscimo linear (p-valor <0,0001) conforme ao aumento de NO nos tratamentos, indicando que os tratamentos com GSNO nanoencapsulada nas concentrações testadas, prejudicaram o vigor das sementes de feijão, diminuindo sua velocidade de germinação (Figura 1).

Quando comparamos os efeitos das concentrações nos dois ambientes, podemos observar que nas concentrações mais altas os efeitos negativos

do NO foi observado com uma diferença significativa no ambiente com estresse, demonstrando um efeito somatório de estresse por alumínio e de NO para essa variável (Tabela 2).

**Tabela 2** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de PC, G e ANOR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por alumínio.

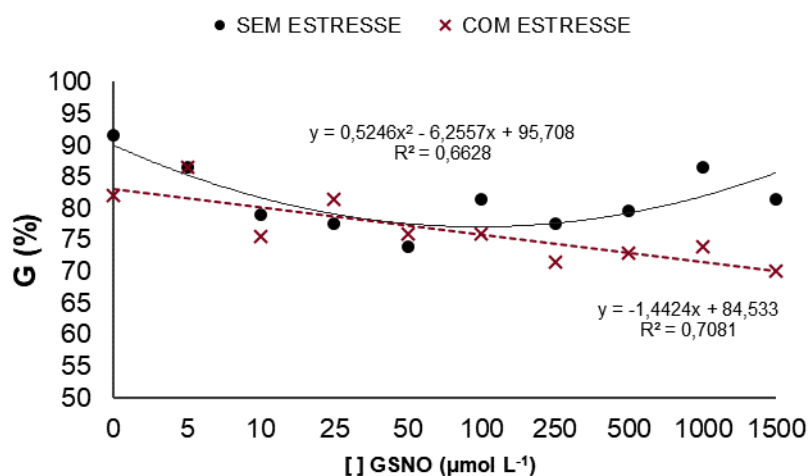
[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MÉDIAS VARIÁVEIS					
	PC (%)		G (%)		ANOR (%)	
	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM
0	82,5 a	70,0 b	91,5 a	82,0 b	4,0 a	9,5 b
5	79,0 a	77,0 a	86,5 a	86,5 a	5,5 a	6,0 a
10	67,5 a	59,5 a	79,0 a	75,5 a	9,5 a	11,5 a
25	62,5 b	76,0 a	77,5 a	81,5 a	14,5 a	11,8 a
50	66,5 a	66,0 a	74,0 a	76,0 a	16,5 a	18,5 a
100	68,5 a	59,0 a	81,5 a	76,0 a	12,0 a	17,0 a
250	71,0 a	53,0 b	77,5 a	71,5 a	12,5 a	16,5 a
500	71,5 a	55,0 b	79,5 a	73,0 a	12,0 a	14,0 a
1000	80,5 a	60,5 b	86,5 a	74,0 b	7,0 a	19,5 b
1500	77,0 a	55,5 b	81,5 a	70,0 b	10,5 a	21,0 b

Ao examinar a velocidade de germinação por meio da variável de PC, foi observado que o NO não causa efeito positivo para essa condição de estresse, assim como é relatado por Besson-Bard (2008).

O mesmo efeito foi observado para a variável de germinação total (G), apresentando percentagem de germinação inversamente proporcional as concentrações de NO nos tratamentos submetidos ao estresse por alumínio, com decréscimo linear ( $p$ -valor  $<0,0001$ ). Porém, na concentração de  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , observou-se uma resposta superior ao controle. Na condição sem estresse, há uma leve diminuição na germinação nas concentrações mais baixas, sendo representada por uma curva quadrática com  $p$ -valor  $<0,0001$  (Figura 2).

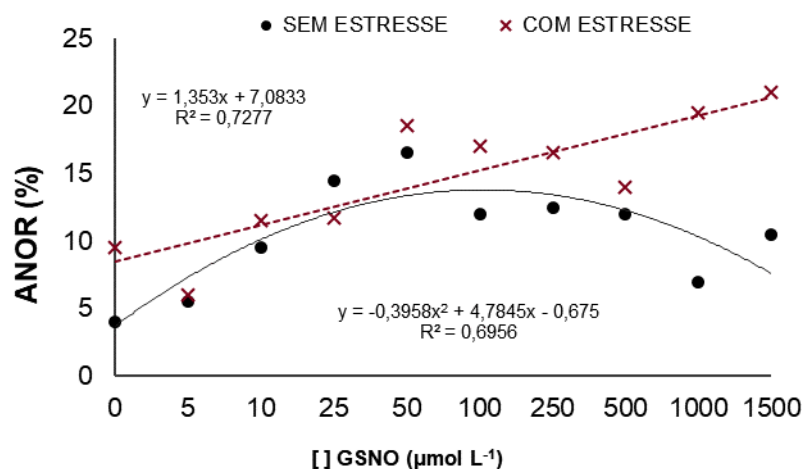
Assim como para variável de PC, o controle apresentou um desempenho de germinação inferior no ambiente com estresse, em comparação ao ambiente sem estresse. Porém, na concentração mais baixas, esses ambientes não apresentaram diferenças entre si, sendo estatisticamente similares nas concentrações de 5, 10, 50, 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para a variável de PC, e 5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para a variável de G (Tabela 2).

**Figura 2** – Análise de regressão para a variável de germinação total (G) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.



Quanto à variável de plântulas anormais (ANOR), houve um aumento linear ( $p$ -valor  $<0,0001$ ) conforme o aumento das concentrações de NO sob estresse por alumínio, enquanto nos tratamentos sem a presença do alumínio houve um aumento no número de ANOR nas concentrações mais baixas, diminuindo com o aumento das concentrações, sendo representado por uma curva de segundo grau com  $p$ -valor  $<0,0001$  (Figura 2).

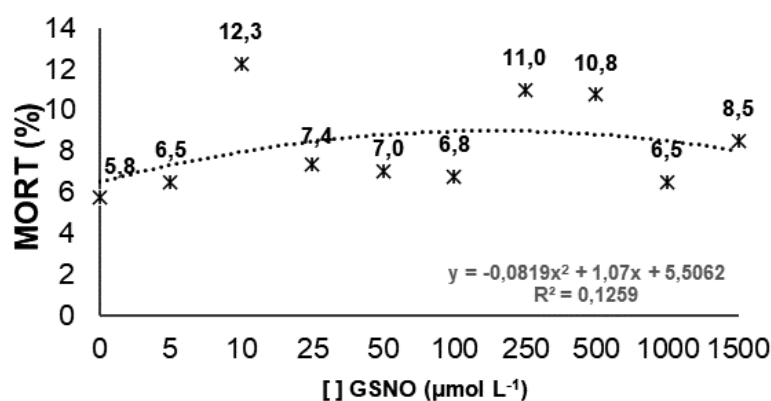
**Figura 3** – Análise de regressão das variáveis plântulas anormais (ANOR) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.



Para a variável de sementes mortas (MORT), houve significância apenas para o fator concentrações, não havendo interação significativa com o fator

ambiente. O ajuste quadrático para apresentar o comportamento das concentrações foi não significativo, com p-valor de 0,0723. Dentro dos dois ambientes houve aumento na porcentagem de sementes mortas nos tratamentos contendo NO, obtendo médias maiores ao tratamento controle, sem o NO (Figura 4).

**Figura 4** – Análise de regressão para a variável de sementes mortas (MORT), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.



Os efeitos do NO no desempenho germinativo de plantas sujeitas a estresses abióticos, são influenciados por suas concentrações. Baixas doses desta molécula tendem a induzir respostas benéficas, promovendo o desenvolvimento das plântulas. No entanto, doses elevadas podem resultar em efeitos fitotóxicos, desencadeando um estresse nitroso que pode levar à morte celular. Portanto, o NO exibe um duplo efeito: pode auxiliar na proteção e no desenvolvimento das plântulas, mas sua concentração precisa ser cuidadosamente controlada, pois pode se tornar letal (SANTISREE et al., 2015).

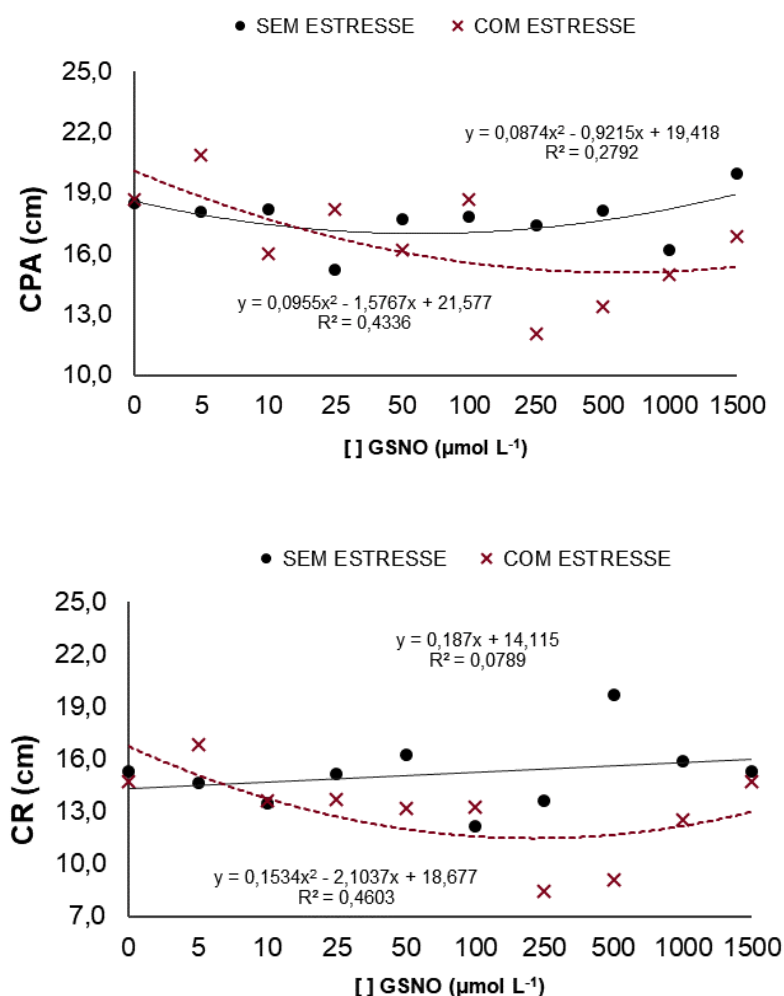
As variáveis de comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR) apresentaram linhas de tendências similares para os resultados obtidos, em ambas as condições ambientais estudadas. Para o ambiente sem estresse, o ajuste quadrático para apresentar o comportamento das concentrações foi não significativa, com p-valor de 0,0821 para CPA e 0,1131 para CR. Quando em condição de estresse do alumínio, foi observado aumento de CPA para a concentração de 5 µmol L<sup>-1</sup> de GSNO (p-valor <0,0001) e CR foi apresentado por ajuste quadrático não significativo (p-valor= 0,5068) (Tabela 3) e (Figura 5).

**Tabela 3** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de CPA e CR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por alumínio.

[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MÉDIAS VARIÁVEIS			
	CPA (cm)		CR (cm)	
	SEM	COM	SEM	COM
0	18,48 a	18,68 a	15,26 a	14,73 a
5	18,08 a	20,85 a	14,65 a	16,85 a
10	18,20 a	16,00 a	13,50 a	13,63 a
25	15,23 a	18,20 a	15,15 a	13,70 a
50	17,68 a	16,20 a	16,25 a	13,20 a
100	17,80 a	18,68 b	12,18 a	13,25 a
250	17,40 a	12,03 b	13,63 a	8,40 b
500	18,15 a	13,38 b	19,70 a	9,13 b
1000	16,18 a	14,95 a	15,85 a	12,55 a
1500	19,98 a	16,85 a	15,28 a	14,70 a

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente dentro da mesma concentração pelo teste F.*

**Figura 5** – Análise de regressão para variável de comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR) em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por alumínio.



Um estudo conduzido por Wang e Yang (2005) em plantas de *Cassia tora* L. evidenciou que o óxido nítrico desempenha um papel protetor contra o estresse oxidativo induzido pelo alumínio, promovendo o crescimento das raízes e reduzindo o acúmulo de  $Al^{3+}$  nos ápices radiculares, contrariando os resultados obtidos no feijão neste estudo.

Não se observou interação significativa entre os fatores concentração e ambiente para as variáveis de massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR).

Entretanto, para a variável MSPA, verificou-se um efeito significativo entre os ambientes (Tabela 4), onde o ambiente com presença de alumínio tóxico demonstrou uma média de MSPA estatisticamente superior em comparação ao ambiente sem estresse.

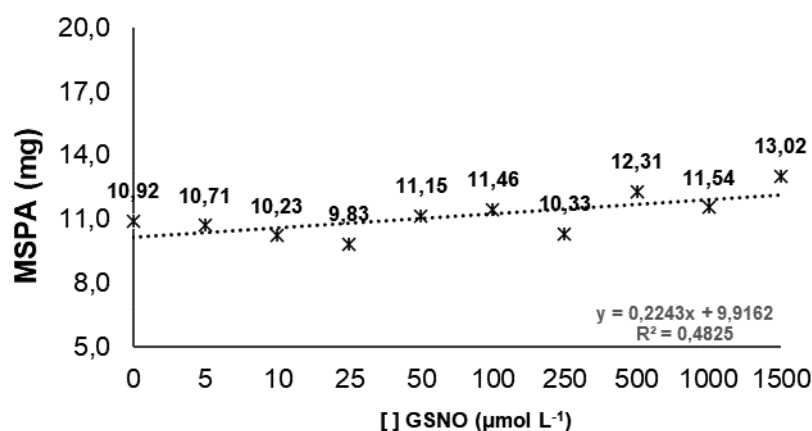
**Tabela 4** – Teste de média para o fator ambiente pelo teste F, para variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, sob condições com e sem estresse por alumínio.

[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MSPA (mg)	
	SEM ESTRESSE	COM ESTRESSE
0	9,08	12,75
5	7,75	13,67
10	7,88	12,58
25	8,50	11,17
50	8,87	13,42
100	10,00	12,92
250	8,92	11,75
500	10,88	13,75
1000	9,25	13,83
1500	10,54	15,50
<b>MÉDIA</b>	<b>9,17 b</b>	<b>13,13 a</b>

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste F.*

Além disso, foi constatado um efeito significativo para o fator concentração (Figura 6), onde se observou um aumento linear na massa seca da parte aérea (MSPA) com o incremento das concentrações de óxido nítrico (NO), independente do ambiente. Este comportamento foi corroborado por um p-valor de 0,0032.

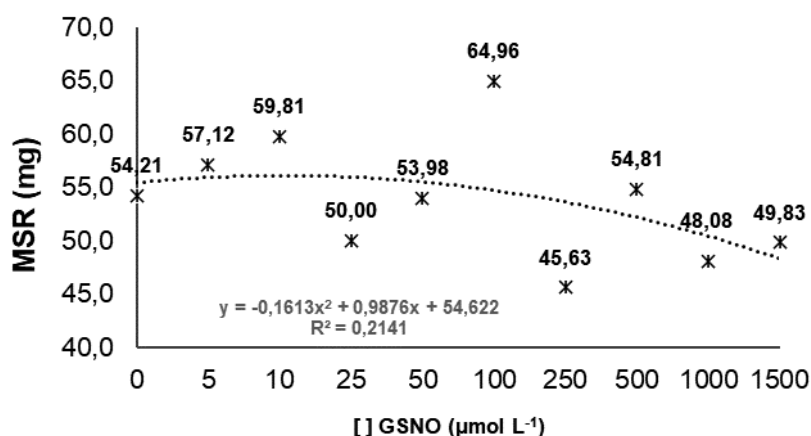
**Figura 6** – Análise de regressão para a variável de massa seca de parte aérea (MSPA), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.



Enquanto para variável de MSR, houve variação de médias entre as concentrações, observando um ligeiro aumento nas duas concentrações mais baixas de 5 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com uma linha de tendência em decréscimo nos tratamentos conforme o aumento das concentrações de GSNO. O ajuste quadrático para apresentar o comportamento das concentrações foi não significativo, com p-valor de 0,2833 (Figura 7).

Foi observado que a presença do alumínio causa um engrossamento do hipocótilo, assim como nas raízes, e esse engrossamento causa um aumento da massa seca, mesmo havendo uma diminuição do comprimento, porém, para a variável de MSR não houve diferença significativa.

**Figura 7** – Análise de regressão para a variável de massa seca de raiz (MSR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.



Correa-Aragunde e seus colaboradores (2008) constataram que o óxido nítrico impacta o crescimento das raízes de tomate de maneira dependente da dose. Concentrações baixas estimulam o crescimento das raízes, ao passo que concentrações elevadas exercem um efeito inibitório sobre o seu desenvolvimento.

#### 4.5 CONCLUSÃO

Em ambiente de estresse com alumínio a  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ , os tratamentos de nanocapsulas de GSNO foram prejudiciais a germinação e crescimento do feijão em todas as concentrações, aumentando o efeito de toxidez do alumínio proporcionalmente com o aumento das concentrações de GSNO.

Em condição sem estresse para germinação e crescimento, as doses mais baixas foram prejudiciais, enquanto nas doses mais altas testadas houve melhora do desempenho, não sendo superior ao controle, sem aplicação de GSNO nanoencapsulado.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

ASSEFA, T.; MAHAMA, A. A.; BROWN, A. V.; CANNON, E. K. S.; RUBYOGO, J. C.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; CANNON, S. B. A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v. 39, n. 2, p. 23, 2019.

BANSAL, P.; RAWAL, V.; BANSAL, V. Pulses of the genera Phaseolus and Vigna. In *The Global Economy of Pulses*; RAWAL, V., NAVARRO, DK, Eds.; **FAO**: Roma, Itália, p. 39–70, 2019.

BESSION-BARD, A.; PUGIN, A.; WENDEHENNE, D. New insights into nitric oxide signaling in plants. **Annu Rev Plant Biol.**, v. 59, p. 21-39, 2008.

BETHKE, P. C.; BADGER, M. R.; JONES, R. L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. **Plant Cell**, v. 16, p. 332-341, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, p. 364, 2009.

CORREA-ARAGUNDE, N.; LOMBARDO, C.; LAMATTINA, L. Nitric oxide: an active nitrogen molecule that modulates cellulose synthesis in tomato roots. **New Phytol.**, v. 79, p. 386-96, 2008.

CALVO, P.; REMUÑÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J. L. E.; ALONSO, M. J. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein transporters. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p.125-132, 1997.

FINCHEIRA, P.; TORTELLA, G.; DURAN, N.; SEABRA, A. B.; RUBILAR, O. Current applications of nanotechnology to develop plant growth inducer agents as an innovation strategy. **Critical Reviews in Biotechnology** 40: 15–30, 2020.

HAYAT, I.; AHMAD, A.; MASUD, T.; AHMED, A.; BASHIR, S. Nutritional and health perspectives of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): An overview. **Crítico. Rev.**, v. 54, p. 580–592, 2014.

PEREIRA, V. G. C.; GRIS, D. J.; MARANGONI, T.; FRIGO, J. P.; AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. Exigências Agroclimáticas para a Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 1, p. 32-42, 2014.

PÉREZ-DE-LUQUE, A. Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture? **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 5, p. 12, 2017.

TÓTH, B.; GRUSAK, M. A. **Aluminum-toxicity responses in *Phaseolus vulgaris* L. genotypes**. *Columella*, v. 4, n. 1, p. 95–100, 2017.

SANTISREE, P.; BHATNAGAR-MATHUR, P.; SHARMA, K. K. NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: Do we have all the answers? **Plant Science**, v. 239, p. 44-55, 2015.

SEABRA, A. B.; DURÁN, N. Nitric oxide-releasing vehicles for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 20, n. 9, p. 1624–1637, 2010.

SEABRA, A. B.; JUSTO, G. Z.; HADDAD, P. S. State of the art, challenges, and perspectives in the design of nitric oxide-releasing polymeric nanomaterials for biomedical applications. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 1370–1379, 2015.

SUN, C.; LU, L.; LIU, L.; LIU, W.; YU, Y.; LIU, X.; HU, Y.; JIN, C.; LIN, X. Nitrate reductase-mediated early nitric oxide burst alleviates oxidative damage induced by aluminum through enhancement of antioxidant defenses in roots of wheat (*Triticum aestivum*). **New Phytologist**, London, v. 201, n.4, p. 1240–1250, 2014.

WANG, Q., LIANG, X., DONG, Y. et al. Effects of Exogenous Salicylic Acid and Nitric Oxide on Physiological Characteristics of Perennial Ryegrass Under Cadmium Stress. **J Plant Growth Regul**, v. 32, p. 721–731, 2013.

WANG, Y. S.; YANG, Z. M. Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L. **Plant Cell Physiology**, 46: 1915-1923, 2005.

## 5 ARTIGO C: CONCENTRAÇÕES DE DOADOR DE ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO

### 5.1 RESUMO

O cultivo do feijão enfrenta desafios, especialmente ligados à disponibilidade de água. O déficit hídrico prejudica a germinação das sementes, retardando o processo e elevando a suscetibilidade a problemas fitopatológicos, comprometendo o estabelecimento das plântulas. O óxido nítrico pode reduzir o impacto desse estresse, e a nanoencapsulação dessa molécula surge como uma alternativa mais viável para o tratamento de sementes. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito protetor do óxido nítrico nanoencapsulado, aplicado em diferentes concentrações, no desempenho germinativo e no crescimento inicial de plântulas de feijão expostas ao estresse causado pelo déficit hídrico. O trabalho foi realizado na Universidade Estadual de Londrina, em delineamento casualizado com esquema fatorial 10x2 com quatro repetições. As sementes de feijão foram tratadas com nanopartículas de quitosana contendo óxido nítrico em dez concentrações: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com e sem estresse por déficit hídrico. As variáveis foram avaliadas para determinar o desempenho germinativo e o desenvolvimento radicular e da parte aérea. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade, além de análise de variância e regressão polinomial para as concentrações, adotando-se um nível de significância de 5%. Sob efeito de déficit hídrico, a um potencial osmótico de -0,15 MPa, apenas o tratamento com a concentração mais alta testada, de 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , se mostrou igual ou superior ao controle para o desempenho germinativo nessa condição.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L.; estresse abiótico; germinação.

### 5.2 INTRODUÇÃO

No Brasil o cultivo do feijão ocorre em todo o território nacional, durante o ano todo, devido ao seu ciclo curto que torna possível até três safras anuais. Com vasta possibilidade de cultivo em locais com diferentes características e adversidades ambientais, o feijão é uma cultura sujeita a várias intempéries e fatores causadores de estresses bióticos e abióticos. Dado que o sistema radicular do feijão é superficial em comparação com outras culturas, ele é particularmente sensível aos efeitos do déficit hídrico, que, quando combinado com altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar, aumenta a taxa de transpiração e, conseqüentemente, a

demanda por água, resultando em perdas na produção de vagens e no enchimento dos grãos (PEREIRA et al., 2014).

O déficit hídrico é principalmente causado pelas mudanças climáticas que ocorrem ao longo dos anos, resultando em períodos de estiagem mais frequentes, caracterizados pela falta de precipitação pluvial (PARKASH; SINGH, 2020).

A disponibilidade de água é um dos fatores críticos que afetam a produtividade do feijão, pois a planta é altamente sensível ao déficit hídrico. A falta de água prejudica significativamente o rendimento da cultura, interrompendo principalmente o processo fotossintético. Quando a deficiência hídrica ocorre no início do ciclo da cultura, resulta em uma redução no crescimento das plantas, na área fotossintética e na produção de flores, vagens e sementes por vagem, podendo levar ao aborto de flores e vagens (ANDROCIOLO et al., 2019).

O processo germinativo e o estabelecimento de plântulas no campo são afetados pela falta de água, com o retardamento da germinação e da emergência da radícula e o surgimento de problemas fitopatológicos devido à ampliação do tempo de germinação. Os efeitos também se apresentam após a emergência do eixo embrionário, refletindo no mau desenvolvimento da planta. De maneira geral, a deficiência hídrica causa danos tanto à parte aérea quanto ao sistema radicular (MARCOS FILHO, 2015).

Em condições de déficit hídrico as plantas desencadeiam respostas ao estresse, resultando alterações morfológicas e nos processos físico-químicos, a fim de aumentar a defesa da planta (CARABALLO, 2006). Como alterações de resposta ao estresse está o acúmulo de osmoprotetores, que agem nas células controlando o ajustamento osmótico, que respondem positivamente a desidratação dos tecidos (SINGH et al., 2015).

Alguns estudos têm mostrado que o NO pode regular processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento de plantas. Nas sementes ele atua na indução do processo germinativo e da respiração após a embebição, sendo que na raiz promove o alongamento e formação das raízes adventícias (BETHKE et al., 2004). A molécula de NO também pode aumentar a tolerância de uma planta em condição de estresse (SIMONTACCHI et al., 2015).

Uma das estratégias mais promissoras atualmente é a nanoencapsulação de agroquímicos, visando aprimorar sua eficácia na entrega às plantas (FINCHEIRA et al., 2021). Essa abordagem tem o potencial de beneficiar a

agricultura ao desenvolver sistemas carreadores capazes de melhorar a estabilidade físico-química dos agroquímicos, bem como de proporcionar uma liberação controlada dos ingredientes ativos. Isso permite que sejam entregues no momento e local adequados, reduzindo os efeitos adversos de agentes externos e minimizando as perdas por degradação, lixiviação e volatilização (PÉREZ-DE-LUQUE, 2017)

O tratamento direto das plantas com óxido nítrico (NO) é tecnicamente desafiador, devido à sua natureza gasosa (VITOR et al., 2013). Além disso, os doadores de NO são compostos instáveis que podem se decompor rapidamente sob ação de altas temperaturas e exposição à luz, resultando em uma liberação rápida e potencialmente tóxica de NO, o que reduz sua eficácia (SEABRA; DURÁN, 2010)

A nanoencapsulação de doadores de NO surgiu como uma estratégia para proteger essas moléculas da decomposição e degradação, possibilitando uma liberação controlada de NO e prolongando seu efeito (SEABRA et al., 2015).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho germinativo e o crescimento de plântulas de feijão, em diferentes concentrações de óxido nítrico (NO) na forma de S-Nitrosoglutationa (GSNO) nanoencapsulado com quitosana, submetidos a estresse por déficit hídrico.

### 5.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na dependência do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, em condição de laboratório. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 10x2 com quatro repetições, sendo dez concentrações de nanopartículas de GSNO, incluindo a testemunha: 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e duas condições de ambiente: sem e com estresse por déficit hídrico.

As soluções com as nanocapsulas de quitosana contendo o doador de NO, foram fornecidas pelo Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH) pertencente à Universidade Federal do ABC, São Paulo.

As nanopartículas foram preparadas utilizando o método de gelificação ionotrópica, conforme descrito por Calvo et al. (1997), que envolve a mistura de quitosana (CS) e glutationa (GSH) em um meio ácido. A mistura de CS/GSH foi adicionada a uma solução de GSNO na proporção de 3:1 de CS/GSH e GSNO, resultando na formação da suspensão de nanopartículas contendo o doador

de óxido nítrico. Antes do tratamento das sementes de feijão, foi adicionado nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) à solução de nanopartículas de quitosana para nitrosar os grupos tiol livres do GS, utilizando uma proporção de 13,6 mg para cada 1 ml de GSNO.

Foram conduzidos testes de germinação e de crescimento em rolos de papel germitest, de acordo com metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As sementes de feijão da cultivar IPR Quero-quero, foram separadas nas porções necessárias para o teste de germinação e para o teste de comprimento, estas foram colocadas em potes de PVC com tampa e tratadas via embebição de semente, em 10ml de solução nas concentrações de 0 (apenas água destilada), 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de GSNO nanopencapsulado, sendo este agitado a cada trinta minutos, até a embebição completa das sementes.

O estresse por déficit hídrico foi simulado por meio da água destilada utilizada para umedecer os rolos de papel *germitest*, adicionando polietileno glicol (PEG-6000) à água destilada, levando-a a um potencial osmótico de -0,15 MPa, potencial esse escolhido de acordo com o trabalho realizado por Moraes et al. (2005) com base em Michel e Kaufman (1973).

O experimento foi realizado em um germinador de sementes do tipo Mangelsdorf, mantido a uma temperatura constante de 25°C. A metodologia adotada para a avaliação do processo de germinação englobou a análise de diversas variáveis, incluindo a primeira contagem (PC), germinação total (G), incidência de plântulas anormais (ANOR) e sementes não viáveis (MORT), as quais foram expressas em porcentagem (%). Além disso, as variáveis relacionadas ao crescimento inicial das plântulas foram medidas, incluindo o comprimento da parte aérea e das raízes (CPA e CR), bem como a massa seca da parte aérea e das raízes (MSPA e MSR), as quais foram registradas em centímetros (cm) e miligramas (mg), respectivamente.

Após cinco dias da montagem do experimento, foi realizada uma avaliação do vigor das sementes em cada tratamento, utilizando a variável PC. No nono dia após o início do teste, as variáveis de G, ANOR e MORT foram avaliadas por meio da contagem das sementes restantes. Nesse mesmo dia, os comprimentos da parte aérea e das raízes foram medidos com o auxílio de uma régua milimetrada, e as plântulas foram separadas para secagem em estufa de ventilação a 65°C por 72 horas, visando determinar a MSPA e a MSR, por meio de pesagem em balança analítica.

Cada tratamento foi repetido quatro vezes, utilizando 50 sementes por repetição para o teste de germinação e 20 sementes por repetição para o teste de crescimento. Os dados obtidos foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade, seguidos de análise de variância, comparação de médias pelo teste F e regressão polinomial, com um nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa SISVAR, desenvolvido por Daniel Furtado Ferreira, da UFLA.

#### 5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise de variância (tabela 1), houve interação significativa entre os fatores para as variáveis de PC, ANOR, CPA, CR e MSR. Para o fator ambiente, foi observado significância para todas as variáveis, enquanto para o fator concentração apenas as variáveis CPA, MSPA e MSR não apresentaram efeito significativo.

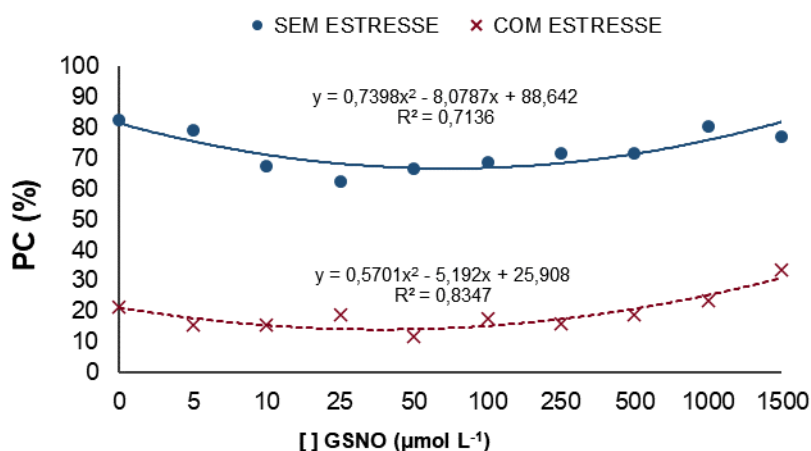
**Tabela 1** – Resumo da análise de variância, para as variáveis de desempenho germinativo de feijão, sob concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado, em condição sem e com estresse por déficit hídrico.

FATORES	GL	Q.M							
		PC	G	ANOR	MORT	CPA	CR	MSPA	MSR
<b>Ambiente (A)</b>	<b>1</b>	346,5 *	159,5 *	253,0 *	8,7 *	33,3 *	2,2 *	4,098 *	5,616 *
<b>Concentração (C)</b>	<b>9</b>	1,6 *	1,7 *	2,3 *	0,7 *	0,1 <sup>ns</sup>	0,2 *	0,069 <sup>ns</sup>	0,317 <sup>ns</sup>
<b>A x C</b>	<b>9</b>	0,6 *	0,8 <sup>ns</sup>	0,9 *	0,5 <sup>ns</sup>	0,2 *	0,2 *	0,088 <sup>ns</sup>	0,692 *
<b>Resíduo</b>		0,2	0,4	0,3	0,3	0,0	0,1	0,070	0,372
<b>CV (%)</b>		7,59	8,72	11,64	17,53	6,06	6,92	7,97	8,80
<b>Média geral</b>		45,97	60,42	28,27	10,25	13,03	14,41	10,66	47,98

<sup>ns</sup>: não significativo, \*:significativo a 5%, primeira contagem (PC), germinação (G), plântulas anormais (ANOR), sementes mortas (MORT), comprimento de plântulas e de raiz (CPA e CR), massa seca de parte aérea e raiz (MSPA e MSR).

Para a variável de primeira contagem (PC), tanto para o ambiente sem quanto para o ambiente com déficit hídrico, os tratamentos apresentaram um decréscimo na porcentagem de plantas germinadas nas concentrações de NO mais baixas, com uma leve recuperação conforme o aumento dessas concentrações, ambos com ajuste quadrático com p-valor <0,0001(Figura 1).

**Figura 1** – Análise de regressão para a variável de primeira contagem (PC), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico.



Em condição estressante as duas maiores concentrações resultaram numa taxa de germinação maior que o tratamento sem a presença de NO, porém sem diferença significativa entre as demais concentrações (Figura 1).

A germinação na PC em ambiente com déficit hídrico foi muito inferior em todas as concentrações de NO quando comparado ao ambiente com condições ideais (Tabela 2). O potencial osmótico de -0,15 MPa pode ter sido muito severo para a cultivar utilizada.

**Tabela 2** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de PC e ANOR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico.

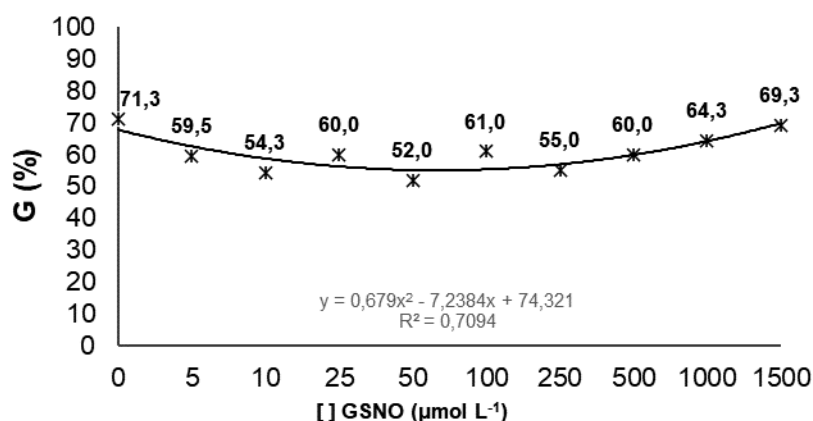
[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MÉDIAS VARIÁVEIS			
	PC (%)		ANOR (%)	
	SEM	COM	SEM	COM
0	82,5 a	21,5 b	4,0 a	33,5 b
5	79,0 a	15,5 b	5,5 a	52,0 b
10	67,5 a	15,5 b	9,5 a	50,0 b
25	62,5 a	19,0 b	14,5 a	42,5 b
50	66,5 a	12,0 b	16,5 a	59,5 b
100	68,5 a	17,5 b	12,0 a	48,0 b
250	71,4 a	16,0 b	12,5 a	49,5 b
500	71,5 a	19,0 b	12,0 a	48,5 b
1000	80,5 a	23,5 b	7,0 a	44,0 b
1500	77,0 a	33,5 b	10,5 a	34,0 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste F.*

Para a variável de germinação total (G) não houve significância entre os fatores ambientes e concentrações de NO, porém, quando analisando o comportamento das concentrações de GSNO independente do ambiente, foi observado um comportamento similar a variável de PC, com uma leve queda nas concentrações mais baixas seguido de um leve aumento de germinação nas concentrações mais altas, sendo apresentado por um ajuste quadrático (p-valor <0,0001) (Figura 2).

Silveira e colaboradores (2020), avaliaram a germinação e o crescimento inicial de feijão em tratamento com concentrações de GSNO associado ou não a  $\text{Ca}^{2+}$ , em condição sem e sob déficit hídrico. Nesse estudo foi observado que o GSNO em altas concentrações (500, 1000 e 2000  $\mu\text{M}$ ) estando associado a  $\text{Ca}^{2+}$  reduz significativamente a velocidade de germinação sob déficit hídrico, sem associação, os tratamentos com GSNO obtiveram um leve aumento na média, porém sem diferença estatística significativa. O mesmo comportamento ocorre na germinação total.

**Figura 2** – Análise de regressão para a variável de germinação total (G), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.



Quando avaliamos o fator ambiente isoladamente, esse apresenta diferença estatística significativa, em que o ambiente com estresse atingiu menos da metade do desempenho germinativo do ambiente sem estresse, independente as concentrações de GSNO (Tabela 3).

**Tabela 3** – Teste de média para o fator ambiente pelo teste F, para variável de germinação total (G) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, sob condições com e sem estresse por déficit hídrico.

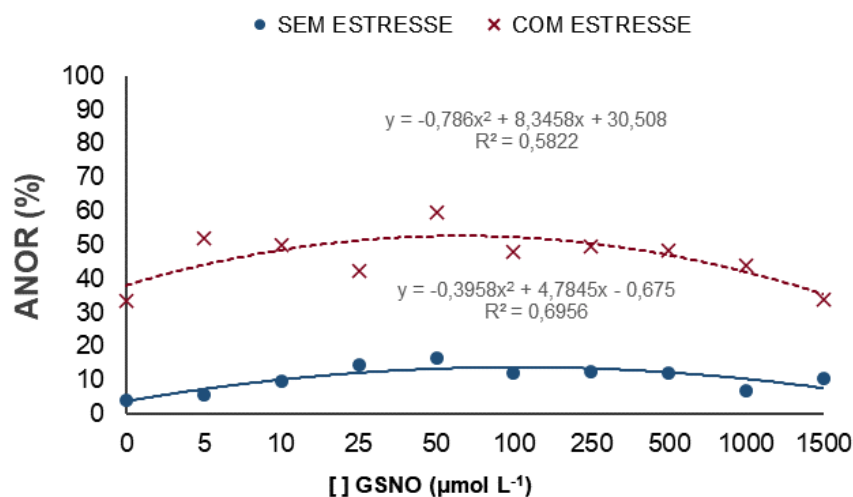
[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	G (%)	
	SEM ESTRESSE	COM ESTRESSE
0	91,50	51,00
5	86,50	32,50
10	79,50	29,00
25	77,50	42,50
50	74,00	30,00
100	81,50	40,50
250	77,50	32,50
500	79,50	40,50
1000	86,50	42,00
1500	81,50	57,00
<b>MÉDIA</b>	<b>82 a</b>	<b>40 b</b>

*Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste F.*

Para a variável número de plântulas anormais (ANOR), os tratamentos com a presença de óxido nítrico (NO) resultaram em médias mais elevadas em comparação com os tratamentos sem NO. Observou-se que as médias foram mais altas nas concentrações intermediárias, porém diminuíram novamente nas concentrações mais elevadas. Destaca-se que a concentração de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  apresentou o maior número de plântulas anormais em ambas as condições ambientais, com e sem estresse (Figura 3).

A porcentagem de plântulas anormais foi consideravelmente superior no ambiente com déficit hídrico. A análise estatística envolveu ajustes quadráticos para ilustrar o comportamento das concentrações ao longo da dose de GSNO, resultando em um p-valor de 0,008 para o ambiente sem estresse e de p-valor  $< 0,0001$  para o ambiente sob déficit hídrico (Figura 3).

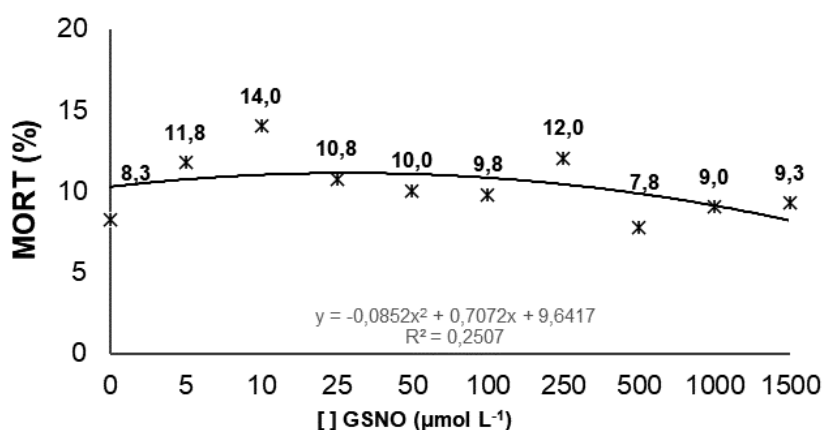
**Figura 3** – Análise de regressão para a variável de plântulas anormais (ANOR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico



Para a variável de sementes mortas (MORT), não houve interação significativa entre os fatores pela análise de variância, sendo significativa para os fatores ambiente e concentração de modo isolado.

Para o fator concentração, houve um aumento de MORT para as concentrações mais baixas de 5 e 10 μmol L<sup>-1</sup>, com quedas da curva a partir da concentração de 25 μmol L<sup>-1</sup>. O ajuste quadrático para apresentar o comportamento das concentrações foi não significativo, com p-valor de 0.1365 (Figura 4).

**Figura 4** – Análise de regressão para a variável de sementes mortas (MORT), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão.



Para o fator ambiente isoladamente, o déficit hídrico promoveu um efeito deletério maior que a condição ideal de cultivo, sendo significativamente mais letal para semente e indicando que os tratamentos de GSNO não diminuíram o efeito dessa adversidade para semente (Tabela 4).

**Tabela 4** – Teste de média para o fator ambiente pelo teste F, para variável de sementes mortas (MORT) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, sob condições com e sem estresse por déficit hídrico.

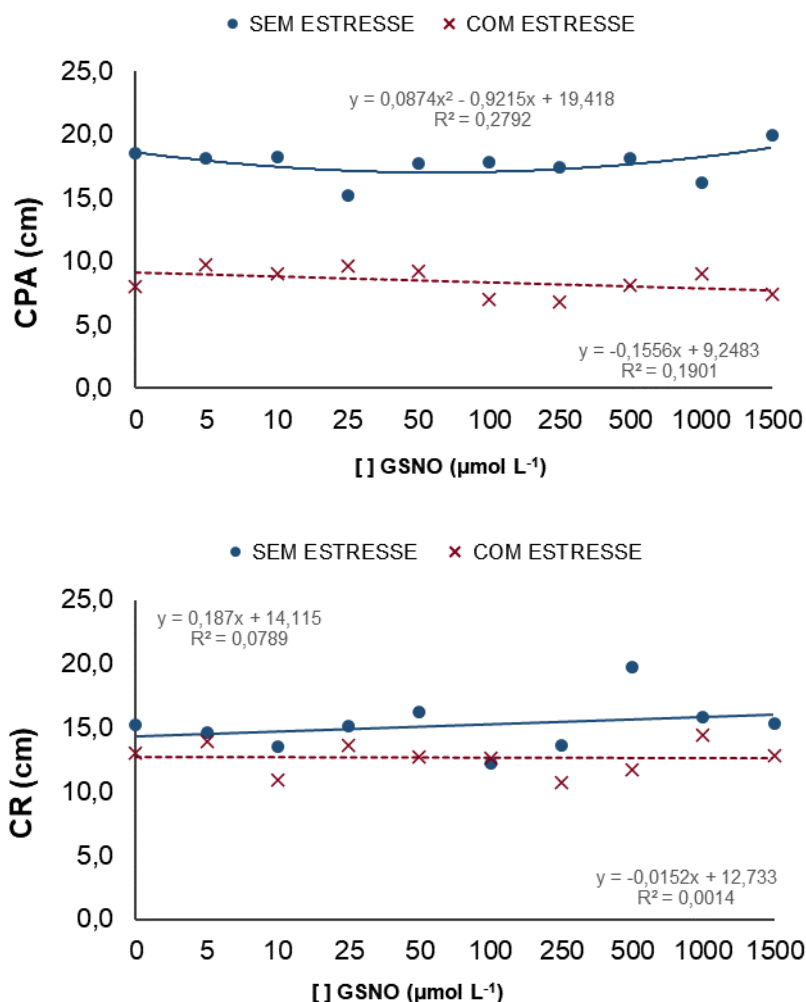
[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MORT (%)	
	SEM ESTRESSE	COM ESTRESSE
0	4,50	12,00
5	8,00	15,50
10	11,50	16,50
25	8,00	13,50
50	9,50	10,50
100	6,50	13,00
250	10,00	14,00
500	8,50	7,00
1000	6,50	11,50
1500	8,00	10,50
<b>MÉDIA</b>	<b>8 a</b>	<b>12 b</b>

*Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste F.*

Em relação ao comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR), não foram observadas variações significativas no comprimento em função das diferentes concentrações, em ambas as condições de ambiente. Notavelmente, constatou-se que o CPA foi maior no ambiente sem estresse, o que é evidenciado por uma tendência significativa (p-valor= 0,0256), enquanto no ambiente com estresse por déficit hídrico, apresentou um comportamento linear não significativo (p-valor= 0,0826) (Figura 5 e Tabela 5).

No que diz respeito ao CR, as médias foram semelhantes nos dois ambientes, com um leve aumento linear no ambiente sob déficit hídrico. Neste último, as médias foram estatisticamente menores apenas nas concentrações de 50, 250 e 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em ambos os ambientes, não foi possível ajustar uma função significativa, sendo representado por uma função linear com p-valor de 0,1210 para o ambiente sem estresse e p-valor de 0,8872 para o ambiente sob déficit hídrico (Tabela 5).

**Figura 5** – Análise de regressão para as variáveis de comprimento de parte aérea e de raiz (CPA e CR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico.



**Tabela 5** – Resultados do desdobramento e teste F para o fator concentração, para as variáveis de CPA, CR e MSR, no tratamento por óxido nítrico nanoencapsulado, em condições com e sem estresse por déficit hídrico.

[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MÉDIAS VARIÁVEIS					
	CPA (cm)		CR (cm)		MSR (mg)	
	SEM	COM	SEM	COM	SEM	COM
0	18,48 a	8,03 b	15,26 a	12,98 a	49,50 a	48,00 a
5	18,08 a	9,70 b	14,65 a	13,93 a	51,17 a	36,25 b
10	18,20 a	9,03 b	13,50 a	10,88 a	50,08 a	51,33 a
25	15,23 a	9,63 b	15,15 a	13,63 a	51,83 a	43,42 a
50	17,68 a	9,25 b	16,25 a	12,75 b	49,87 a	46,38 a
100	17,80 a	6,95 b	12,18 a	12,63 a	65,33 a	41,50 b
250	17,40 a	6,83 b	13,63 a	10,75 b	52,25 a	41,29 a
500	18,15 a	8,10 b	19,70 a	11,75 b	52,88 a	42,61 a
1000	16,18 a	9,03 b	15,85 a	14,45 a	49,50 a	41,08 a
1500	19,98 a	7,40 b	15,28 a	12,78 a	44,58 a	50,92 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste F.

Obtendo resultados satisfatórios, um estudo conduzido por Methela e colaboradores (2023), em plantas de soja sujeitas a déficit hídrico revelou que a aplicação de diferentes concentrações de GSNO resultou em melhora significativas nas características relacionadas ao desenvolvimento radicular, tanto em condições normais quanto de estresse. As nanopartículas demonstraram efeito benéfico em várias características, como comprimento total, volume e área de superfície radicular, bem como no número de raízes secundárias, além de aumentarem a formação de nódulos, uma característica importante para as leguminosas. Esse efeito positivo pode ser atribuído à liberação prolongada e consistente de NO pela nanopartícula de quitosana.

Não houve significância para interação entre os fatores e para o fator concentração na variável de massa seca de parte aérea (MSPA), houve significância apenas para o fator ambiente, em que o ambiente com estresse por déficit hídrico resultou em um maior peso de parte aérea, em comparação ao ambiente sem estresse (Tabela 6).

**Tabela 6** – Teste de média para o fator ambiente pelo teste F, para variável de massa seca de parte aérea (MSPA) em tratamento com óxido nítrico nanoencapsulado, sob condições com e sem estresse por déficit hídrico.

[ ] GSNO ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	MSPA (mg)	
	SEM ESTRESSE	COM ESTRESSE
0	9,08	11,25
5	7,75	12,33
10	7,88	12,88
25	8,50	11,00
50	8,87	12,33
100	10,00	11,67
250	8,92	12,46
500	10,88	12,29
1000	9,25	13,58
1500	10,54	11,79
<b>MÉDIA</b>	<b>9,17 b</b>	<b>12,16 a</b>

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem estatisticamente pelo teste F.

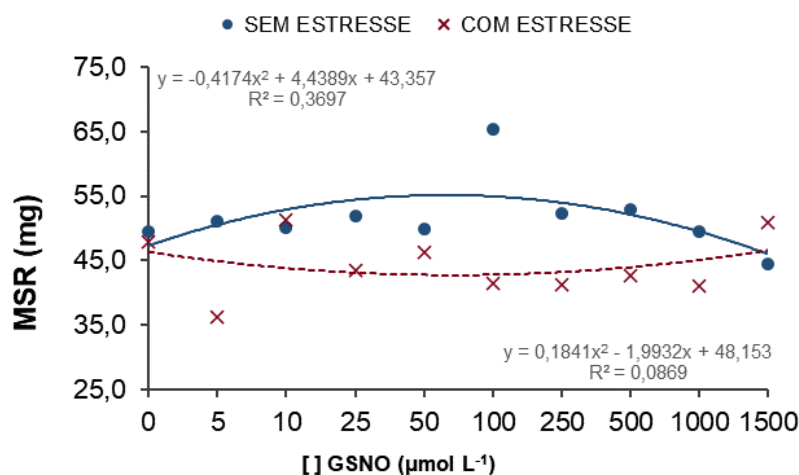
Para a massa seca de raiz (MSR), ocorreu resposta diferente para os tratamentos nos dois ambientes, para o ambiente sem déficit hídrico, ocorreu um aumento da MSR para as concentrações intermediárias com um decréscimo nas concentrações mais altas de 1000 e 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo representado por um ajuste

quadrático com p-valor de 0,0268 (Figura 6).

Enquanto no ambiente sob estresse por déficit hídrico, ocorreu uma queda da MSR nas concentrações mais baixas, com um leve aumento na concentração mais alta de 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo apresentado um ajuste quadrático não significativo para demonstrar o comportamento das doses, com p-valor de 0.3208 (Figura 6).

Para o tratamento sem a presença do óxido nítrico, nas duas condições de ambiente não diferiram estatisticamente, sendo diferidos apenas nas concentrações de 5 e 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Tabela 5).

**Figura 6** – Análise de regressão para a variável de massa seca de raiz (MSR), em função das concentrações de óxido nítrico nanoencapsulado no tratamento de sementes de feijão sob condição sem e com estresse por déficit hídrico.



Em um trabalho realizado por Oliveira e colaboradores (2016), em que foi avaliado NO nanoencapsulado com quitosana na forma de S-nitroso-mercaptossuccínico, em estresse salino na cultura do milho, observaram que para MSPA não houve diferença significativa entre o controle (sem NO) e as duas concentrações testadas (50 e 100  $\mu\text{M}$ ), enquanto para MSR os tratamentos contendo NO nas duas concentrações, tiveram médias significativamente inferiores ao controle.

Silveira et al. (2020), também verificaram que em condição de déficit hídrico há uma redução significativa da MSPA e da MSR de feijão, nos tratamentos contendo GSNO e GSNO +  $\text{Ca}^{2+}$  em relação ao controle.

Contudo, o impacto de doadores de NO ou de nanopartículas liberadoras de NO na arquitetura radicular e em outras características, ainda é

desconhecido. Em um estudo de Silveira e colaboradores (2019), observaram uma relação raiz-parte aérea máxima em plantas de cana-de-açúcar submetidas a condições de estresse hídrico após a aplicação de GSNO nanoencapsulado.

Carmo et al. (2021), também identificaram resultados positivos na nanoencapsulação, causando um significativo efeito protetor do S-nitroso-MSA em mudas de *H. popayanensis* sujeitas ao estresse hídrico, indicando um potencial aplicação de nanopartículas liberadoras de NO na produção de mudas de árvores com maior tolerância à seca para programas de reflorestamento.

## 5.5 CONCLUSÃO

Sob efeito de déficit hídrico, a um potencial osmótico de -0,15 MPa, apenas o tratamento com a concentração mais alta testada, de 1500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , se mostrou igual ou superior ao controle para o desempenho germinativo nessa condição.

## 5.6 REFERÊNCIAS

ANDROCIOLO, L. G.; ZEFFA, D. M.; ALVES, D. S.; TOMAZ, J. P.; MODA-CIRINO, V. Effect of water deficit on morphoagronomic and physiological characteristics of common bean genotypes with contrasting drought tolerance. **Water**. 12, 217, 2020.

BETHKE, P. C.; BADGER, M. R.; JONES, R. L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. **Plant Cell**, 16: 332-341, 2004.

CALVO, P.; REMUÑÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J. L. E.; ALONSO, M. J. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein transporters. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p.125-132, 1997.

CARABALLO, R. A. Mejoramiento para resistenciala sequia enel cultivo del arroz. Instituto de Investigacionesdel Arroz. **Sanctispiritu**, 2006.

CARMO, G. C.; IASTRENSKI, L. F.; DEBIASI, T. V.; DA SILVA, R. C.; GOMES, D. G.; PELEGRINO, M. T.; BIANCHINI, E.; STOLF-MOREIRA, R.; PIMENTA, J. A.; SEABRA, A. B.; OLIVEIRA, H.C. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on drought-stressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 225, 2021.

FINCHEIRA, P.; TORTELLA, G.; DURAN, N.; SEABRA, A. B.; RUBILAR, O. Current

applications of nanotechnology to develop plant growth inducer agents as an innovation strategy. **Critical Reviews in Biotechnology** 40: 15–30, 2020.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates. Acesso em: 15 jul. 2023. 2015.

METHELA, N. J.; PANDE, A.; ISLAM, M. S. et al. Chitosan-GSNO nanoparticles: a positive modulator of water stress tolerance in soybean. **Planta Biol**, v. 23, p. 639, 2023.

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 51, n. 6, p. 914-916, 1973.

MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L.; PASQUALLI, L. L. Comportamento de sementes de feijão sob diferentes potenciais osmóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 776-780, 2005.

OLIVEIRA, H. C.; GOMES, B. C.; PELEGRINO, M. T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in corn plants. **Nitric oxide**, v. 61, p. 10–9, 2016.

SILVEIRA, N. M.; SEABRA, A. B.; MARCOS, F. C.; PELEGRINO, M. T.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Encapsulation of S-nitrosoglutathione in chitosan nanoparticles improves drought tolerance in sugarcane plants. **Nitric oxide**, v. 84, p. 38–44. 2019

SILVEIRA, N. M.; RIBEIRO, R. V.; PRATAVIERA, P. J. C. et al. Germination and initial growth of common bean plants under water deficit affected by seed treatment with S-nitrosoglutathione and calcium chloride. **Theory Plant Physiological Exp.**, v. 32, p. 49–62, 2020.

PARKASH, V; SINGH, S. A Review on Potential Plant-Based Water Stress Indicators for Vegetable Crops. **Sustainability**, v. 12, n. 10, p. 3945-3973, 2020.

PEREIRA, V. G. C.; GRIS, D. J.; MARANGONI, T.; FRIGO, J. P.; AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. Exigências Agroclimáticas para a Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 1, p. 32–42, 2014.

PÉREZ-DE-LUQUE, A. Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture? **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 5, p. 12, 2017.

SEABRA, A. B.; DURÁN, N. Nitric oxide-releasing vehicles for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 20, n. 9, p. 1624–1637, 2010.

SEABRA, A. B.; JUSTO, G. Z.; HADDAD, P. S. State of the art, challenges and perspectives in the design of nitric oxide-releasing polymeric nanomaterials for biomedical applications. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 1370–1379, 2015.

SIMONTACCHI, M.; GALATRO, A; RAMOS-ARTUSO, F.; SANTA-MARÍA, G.E. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic

stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, p. 977, 2015.

SINGH, M; KUMAR, J; SINGH, S; SINGH, V. P; PRASAD, S. M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plantas: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, p. 407-426, 2015.

VITOR, S. C.; DUARTE, G. T. Nitrate reductase is required for the transcriptional modulation and bactericidal activity of nitric oxide during the defense response of *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae*. **Planta**, Berlin, v. 238, n. 3, p. 475–486, 2013.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo teve como objetivo entender o comportamento da germinação de sementes de feijão sob condições estressantes e o efeito protetivo de NO aplicado no tratamento de sementes na forma de GSNO nanoencapsulado.

Em experimento para identificar a concentração de alumínio a ser utilizado para causar efeito tóxico, e qual cultivar de feijão do grupo carioca utilizar, foi identificado que a cultivar IPR Sábua possui características de melhor tolerância ao alumínio quando comparada a IPR Quero-quero. Porém, essa última havia sido caracterizada como tolerante a presença de alumínio em outros estudos, em que não foi avaliado a Cultivar IPR Sábua, demonstrando assim, aptidão dessa cultivar para regiões de cultivo com solos com maiores teores de alumínio e ácidos. Quanto a concentração de alumínio recomendada para causar efeitos tóxicos e apresentar sintomas visíveis na germinação e no crescimento de plântulas de feijão, é recomendado utilizar uma concentração acima de  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ , não ultrapassando a concentração de  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ , o que pode tornar inviável a avaliação de algumas variáveis.

Na condição de estresse por alumínio, o tratamento contendo doadores de NO nanoencapsulado não causou efeito protetivo ao estresse. Os tratamentos contendo as nanopartículas com GSNO agiram como mais um agente estressante, sendo prejudicial para o desempenho germinativo. O mesmo aconteceu em condição sem estresse nas concentrações mais baixas testadas, mostrando uma leve melhora nas concentrações mais altas, de  $1000$  e  $1500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Sendo assim, sugestivo a realização de mais estudos utilizando de maiores concentrações.

No experimento sob condição de déficit hídrico, foi adicionado com base na literatura um potencial osmótico de  $-0,15 \text{ MPa}$  para simular condição de germinação sob déficit hídrico, porém, o potencial utilizado pode ter sido muito severo para a cultivar utilizada, tendo seu desempenho muito inferior a condição sem déficit. Os tratamentos com GSNO nanoencapsulado também foram identificados como limitantes nas menores concentrações testadas, com uma melhora na concentração mais alta, de  $1500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , indicando a importância de mais estudos em maiores concentrações de GSNO.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A.; HASHMI, S. S.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. Influence of metallic, metallic oxide, and organic nanoparticles on plant physiology. **Chemosphere**. 290: 133329. 2022.

AMARAL, J. A. T.; CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B. Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a composição de metabólitos nitrogenados e de carboidratos em *Stylosanthes guianensis* e *S. macrocephala*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.2, p. 313-320, 2000.

ANDROCIOLI, L.G.; ZEFFA, D.M.; ALVES, D.S.; TOMAZ, J.P.; MODA-CIRINO, V. Effect of water deficit on morphoagronomic and physiological traits of common bean genotypes with contrasting drought tolerance. **Water**, v. 12, p. 1-13, 2020.

ARTEAGA, S.; YABOR, L.; DÍEZ, M. J.; PROHENS, J.; BOSCAIU, M.; VICENTE, O. The use of proline in screening for tolerance to drought and salinity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. **Agronomy**, v. 10, n. 817, p. 1- 16, 2020.

ASSEFA, T.; MAHAMA, A. A.; BROWN, A. V.; CANNON, E. K. S.; RUBYOGO, J. C.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; CANNON, S. B. A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v. 39, n. 2, p. 23, 2019.

AVELLAN, A.; YUN, J.; MORAIS, B. P.; CLEMENT, E. T.; RODRIGUES, S. M.; LOWRY, G. V. Critical review: role of inorganic nanoparticle properties on their foliar uptake and in planta translocation. **Environmental Science and Technology** 55: 13417–13431, 2021.

AZEVEDO NETO, A. D. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos do estresse salino em plantas de milho**. 2005. 149 fls. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

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

BETHKE, P. C.; BADGER, M. R.; JONES, R. L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. **Plant Cell**, 16: 332-341, 2004.

BILLARD, V.; ETIENNE, P.; JANNIN, L.; GARNICA, M.; CRUZ, F.; GARCIA-MINA, J, M.; YVIN, J.; OURRY, A. Two 40 biostimulants derived from algae or humic acid induce similar responses in the mineral content and gene expression of winter Oilseed Rape. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n.2, p. 305–316, 2013.

BIAN, M. et al. Moleculares approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal**, v. 1, n. 2, p.91-104, dez. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, p. 364, 2009.

CARABALLO, R. A. **Mejoramiento para resistenciala sequia enel cultivo del arroz**. Instituto de Investigacionesdel Arroz. Sanctispiritu, 2006.

CARUTHERS, S. D.; WICKLINE, S. A.; LANZA, G. M. Nanotechnological applications in medicine. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 18, n.1, p. 26–30, fev. 2007.

CONAB. Safra Brasileira de Grãos. **Boletim da Safra de Grãos 2022**. Acesso em: 17 jun, 2022.

DOUNIGHI, M. N.; ESKANDARI, R.; AVADI, M.; ZOLFAGHARIAN, H.; MOHAMMAD S. A.; REZAYAT, M. Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing *Mesobuthus eupeus* scorpion venom as an antigen delivery system. **J. venom. anim. toxins incl. trop. dis.**, v. 18, n. 1, p. 44-52, 2012.

ETICHA, D.; ZAHN, M.; BREMER, M.; YANG, Z.; RANGEL, A. F.; RAO, I. M.; HORST, W. J. Transcriptomic analysis reveals differential gene expression in response to aluminium in common bean (*Phaseolus vulgaris* L) genotypes. **Annals of Botany**, v.105, n. 7, p. 1119–1128. 2010.

ERTANI, A.; SCHIAVON, M.; MUSCOLO, A.; NARDI, S. Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. **Plant And Soil**, v. 364, n. 1-2, p. 145-158, 11 jul. 2012.

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Circular técnica, 48, P. 9. Embrapa Soja. Londrina, 2007.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. REVISTA BRASILEIRA DE BIOMETRIA, [S.I.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. ISSN 1983-0823. Available at: <<http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>>. Date accessed: 10 feb. 2020. doi: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.

FIDELIS, R. R.; FERNANDES, P. S. M.; MOREIRA, E. R.; TAVARES, T. C. O. Identificação de genótipos de feijoeiro comum tolerantes ao alumínio. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 26–33, 2018.

FINCHEIRA, P.; TORTELLA, G.; DURAN, N.; SEABRA, A. B.; RUBILAR, O. Current applications of nanotechnology to develop plant growth inducer agents as an innovation strategy. **Critical Reviews in Biotechnology** 40: 15–30, 2020.

FLOSS, E. L.; FLOSS, L. G. Fertilizantes Organominerais de Última Geração: funções fisiológicas e uso na agricultura. **Revista Plantio Direto**, edição 100, julho/agosto de 2008.

FREITAS, F. A.; KOPP, M. M.; SOUSA, R. O.; ZIMMER, P. D.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 72-79, 2006.

HE, H.; HE, L.; GU, M. Interactions between nitric oxide and plant hormones in aluminum tolerance. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 4, p.469-471, abr. 2012.

IBRAFE. **O que são pulses?** Disponível em: <https://www.ibrafe.org/o-que-sao-pulses/>  
Acesso em: 15 jul. 2022.

JIANG, M.; SONG, Y.; KANWAR, M. K.; AHAMMED, G. L.; SHAO, S.; ZHOU, J. Phytotechnology applications in modern agriculture. **Journal of Nanobiotechnology**. 19: 430. 2021.

JIMÉNEZ-GÓMEZ, C. P., CECILIA, J. A. "Chitosan: a natural biopolymer with a wide and varied range of applications", **Molecules**, vol. 25, p. 3981–4017, 2020.

JINDO, K; MARTIM, S. A; NAVARRO, E. C; PÉREZ-ALFOCEA, F; HERNANDEZ, T; GARCIA, C; AGUIAR, N. O; CANELLAS, L. P. Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes. **Plant Soil**, v. 353, p. 209-220, 2012.

KOPITTKKE, P. M. et al. **Kinetics and nature of aluminium rhizotoxic effects: a review**. **Exbotj**, v. 67, n. 15, p.4451-4467, 14 jun. 2016.

KUMARASWAMY, R.V.; KUMARI, S.; CHOUDHARY, R.C.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V. Engineered chitosan-based nanomaterials: Bioactivities, mechanisms and perspectives in plant protection and growth. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amesterdã, v. 113, p. 494-506, jul. 2018.

LINKOV, I.; BATES, M. E.; CANIS, L. J.; SEAGER, T. P.; KEISLER, J. M. A decision-directed approach for prioritizing research into the impact of nanomaterials on the environment and human health. **Nature Nanotechnology**, London, v. 6, p. 784–787, out. 2011.

LÜDERS, M. Feijão brasileiro quer ser a "proteína verde" do mundo. **Vida Rural**. Portugal. 10 dez. 2021.

MAGALHÃES, I. D.; LYRA, G. B.; SOUZA, J. L.; LYRA, G. B.; FERRAZ, R. L. de S.; CAVALCANTE JÚNIOR, C. A. Growth, production and yield of common bean under water replacement levels. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 10, p. 754-760, 2019.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **PLANO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA CADEIA DO FEIJÃO E PULSES**. Brasília – DF, 2018.

MARCOS FILHO, Júlio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates. Acesso em: 15 jul. 2022. 2015.

MATA-PÉREZ, C.; SANCHEZ-CALVO, B.; BEGARA-MORALES, J. C.; CARRERAS A, PADILLA M. N.; MELGUIZO, M.; VALDERRAMA, R.; CORPAS, F. J.; BARROSO, J. B. Nitro-linolenic acid is a nitric oxide donor. **Nitric Oxide** 57: p. 57–63, 2016.

MATSUMOTO, H.; MOTODA, H. Aluminum toxicity recovery processes in root apices. Possible association with oxidative stress. **Plant Science**, v. 185-186, p.1-8, abr. 2012.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.6, p.914-916, 1973.

MOHAMMED, M. A., SYEDA, J. T. M., WASAN, K. M., WASAN, E. K. "An overview of chitosan nanoparticles and their application in non-parenteral drug administration", **Pharmaceutics**, vol. 9, não. 4, p. 53, 2017.

NAKABAYASHI, R.; SAITO, K. Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 24, p.10-16, abr, 2015.

NEILL, S. J.; BARROS, R.; BRIGHT, J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J.; HARRISON, J.; MORRIS, P.; RIBEIRO, D; WILSON, I. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 165–176, 2008.

NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T. Nitric oxide signalling in plants. **New Phytologist**, v. 159, n. 1, p.11-35, Jul. 2003

OLIVEIRA, H. C.; GOMES, B. C. R.; PELEGRINO, M. T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric Oxide** 61, p. 10-19. 2016.

PAKDEL, P. M., PEIGHAMBARDoust, S. J. Review of recent progress on chitosan-based hydrogels for application in wastewater treatment. **Carbohydrate polymers**, 201, p. 264-279. 2018.

PARKASH, V; SINGH, S. A Review on Potential Plant-Based Water Stress Indicators for Vegetable Crops. **Sustainability**, v. 12, n. 10, p. 3945-3973, 12 maio, 2020.

PARHI, R. "Chitin and chitosan drug delivery applications: a review", **Environmental Chemistry Letters**, vol. 18, n. 3, p. 577–594, 2020.

PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P. J.; FRACETO, L. F.; SEABRA, A. B.; OLIVEIRA H. C. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview. **Energy Ecology and Environment** 3: p. 137–148. 2018.

PAVANI, L. C.; LOPES, A. S.; GALBEIRO, R. B. **Manejo da irrigação na cultura do feijoeiro em sistemas plantio direto e convencional**. Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 12-21, 2008.

PEREIRA, V. G. C.; GRIS, D. J.; MARANGONI, T.; FRIGO, J. P.; AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. Exigências Agroclimáticas para a Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 1, p. 32–42, 2014.

PEREIRA A. E. S, OLIVEIRA H. C, FRACETO L. F, SANTAELLA C. Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. **Nanomaterials** 11: 267, 2021.

PERERA, U.; RAJAPAKSE, N. **Chitosan nanoparticles: preparation, characterization, and applications**. Springer, New York, p. 371-387, 2013.

PÉREZ-DE-LUQUE, A. Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture? **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 5, p. 12, 2017.

PIERETTI, J. C.; PELEGRINO, M. T.; NASCIMENTO, M. H. M.; TORTELLA, G. R, RUBILAR, O.; SEABRA, A. B. Small molecules for great solutions: can nitric oxide-

releasing nanomaterials overcome drug resistance in chemotherapy? **Biochemical Pharmacology** 176: 113, 2020.

PISSOLATO, M. D.; SILVEIRA, N. M.; PRATA-VIERA, P. J. C.; MACHADO, E. C.; SEABRA, A. B.; PELEGRINO, M. T.; SODEK, L.; RIBEIRO, R. V. Enhanced nitric oxide synthesis through nitrate supply improves drought tolerance of sugarcane plants. **Frontiers in Plant Science** 11: 970, 2020.

PLANCHET, E. et al. Nitric oxide emission from tobacco leaves and cell suspensions: rate limiting factors and evidence for the involvement of mitochondrial electron transport. **The Plant Journal**, v. 41, n. 5, p.732-743, 2 fev. 2005.

RANGEL, A. F.; RAO, I. M.; BRAUN, H. P.; HORST, W. J. Aluminium resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris*) involves induction and maintenance of citrate exudation from root apices. **Physiologia Plantarum**, v.138, n. 2, p. 176–190. 2010.

RAY, R. L.; FARES, A; RISCH, E. Effects of Drought on Crop Production and Cropping Areas in Texas. **Agricultural & Environmental Letters**, v. 3, n. 1, p. 170-187, jan. 2018.

RAWAL, V; NAVARRO, D. K. **The Global Economy of Pulses**. 15 Rome, FAO, 2019.

SANTOS NETO, J.; DELFINI, J.; SILVA, T. W.; HIROSE, A. A.; NOVAIS, J. M.; GONÇALVES, L. S. A.; MODA-CIRINO, V. Response of common bean cultivars and lines to aluminum toxicity. **Agronomy**, v. 10, n. 2, p. 1–15, 2020.

SASTRY, R. K.; RASHMI, H. B.; RAO, N. H. Nanotechnology for enhancing food security in India. **Food Policy**, Guildford, v. 36, n. 3, p. 391-400, jun. 2011.

SEABRA, A. B.; DURÁN, N. Nitric oxide-releasing vehicles for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 20, n.9, p. 1624–1637, fev. 2010.

SEABRA, A. B.; JUSTO, G. Z.; HADDAD, P. S. State of the art , challenges and perspectives in the design of nitric oxide-releasing polymeric nanomaterials for biomedical applications. **Biotechnology Advances**, New York, v. 33, n. 6, p. 1370–1379, nov. 2015.

SEABRA, A. B.; PELEGRINO, M. T.; LOPES-OLIVEIRA, P. J.; GOMES, D. G.; OLIVEIRA, H. C. Overview of nitric oxide homeostasis: strategies for altering the levels of this signaling molecule in plants. In: SINGH, V. P.; SINGH, S.; TRIPATHI, D. K.; ROMEROPUERTAS, M. C.; SANDALIO, L. M. **Nitric oxide in plant biology: an ancient molecule with emerging roles**. London, UK: Academic Press, 183–203, 2022.

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, v. 146, n. 1, p. 26-38, 15 mar. 2012.

SHARON, M.; CHOUDHARY, A.; KUMAR, R. Nanotechnology in agricultural diseases

and food safety. **Journal of Phytology**, Kerala, v. 2, n. 4, p. 83–92, 2010.

SILVEIRA, N. M.; PRATAVIERA, P. J. C.; PIERETTI, J. C.; SEABRA, A. B.; ALMEIDA, R. L.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Chitosan-encapsulated nitric oxide donors enhance physiological recovery of sugarcane plants after water deficit. **Environmental and Experimental Botany** 190: 104593, 2021.

SIMONTACCHI, M.; GALATRO, A.; RAMOS-ARTUSO, F.; SANTA-MARÍA, G.E. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, 977, nov. 2015.

SINGH, M.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plantas: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, p. 407-426, 2015.

SIVAGURU, M.; HORST, W. J. The Distal Part of the Transition Zone Is the Most Aluminum-Sensitive Apical Root Zone of Maize. **Plant Physiology, Rockville**, v. 116, p. 155–163, 1998.

SMITH, M. R.; VENEKLAAS, E.; POLANIA, J.; RAO, I. M.; BEEBE, S. E.; MERCHANT, A. Field drought conditions impact yield but not nutritional quality of the seed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plos One**, v. 14, n. 6, p. 1- 19, 6 jun. 2019.

SUN, C.; LU, L.; LIU, L.; LIU, W.; YU, Y.; LIU, X.; HU, Y.; JIN, C.; LIN, X. Nitrate reductase-mediated early nitric oxide burst alleviates oxidative damage induced by aluminum through enhancement of antioxidant defenses in roots of wheat (*Triticum aestivum*). **New Phytologist**, London, v. 201, n.4, p. 1240–1250, 2014.

TAKESHITA, V.; SOUSA, B. T.; PREISLER, A. C.; CARVALHO, L. B.; PEREIRA, A. E. S.; TORNISIELO, V. L.; DALAZEN, G.; OLIVEIRA, H. C.; FRACETO, L. F. Foliar absorption and field herbicidal studies of atrazine-loaded polymeric nanoparticles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, p.126, 2021.

TÓTH, B.; GRUSAK, M. A. **Aluminum-toxicity responses in *Phaseolus vulgaris* L. genotypes**. *Columella*, v. 4, n. 1, p. 95–100, 2017.

VITOR, S. C.; DUARTE, G.T. Nitrate reductase is required for the transcriptional modulation and bactericidal activity of nitric oxide during the defense response of *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae*. **Planta**, Berlin, v. 238, n. 3, p. 475–486, 2013.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E. L. Tabela do potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WANG, Y. S.; YANG, Z. M. Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L. **Plant Cell Physiology**, v. 46, p. 1915-1923, 2005.

WANG, H.; HUANG, J.; BI, Y. Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots. **Plant Science**, v. 179, n. 3, p. 281-288, 2010.

WANG, Q., LIANG, X., DONG, Y. et al. Effects of Exogenous Salicylic Acid and Nitric Oxide on Physiological Characteristics of Perennial Ryegrass Under Cadmium Stress. **J Plant Growth Regul**, v. 32, p. 721–731, 2013.

YANG, Z. B.; ETICHA, D.; ALBACETE, A.; RAO, I. M.; ROITSCH, T.; HORST, W. J. Physiological and molecular analysis of the interaction between aluminium toxicity and drought stress in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 8, p. 3109–3125, 2012.

YU, M. et al. Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p.1142-1156, 2014.

ZEFFA, D. M.; SANDOLI FILHO, R. MODA-CIRINO, V.; PAVAN, M. A. Variabilidade Genética Para Tolerância à Toxidez de Alumínio em Cultivares e Linhagens Promissoras de Feijão. **UNOPAR Cient. Exatas Tecnol.**, Londrina, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2011.

ZHANG, Y.; FU, L.; LI S.; YAN, J.; SUN, M.; GIRALDO, J. P.; MATYJASZEWSKI, K.; TILTON, R. D.; LOWRY, G. V. Star polymer size, charge content, and hydrophobicity affect their leaf uptake and translocation in plants. **Environmental Science and Technology** 55: 10758–10768, 2021.

ZHAO, L. M.; SHI, L. E.; ZHANG, Z. L.; CHEN, J. M.; SHI, D. D.; YANG, J.; TANG, Z., X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. **Braz J Chem Eng**, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.