

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CRISTIANE CONTERNO DIPP

**CARACTERIZAÇÃO FÍSIO-MOLECULAR DE CULTIVARES DE
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) EM RESPOSTA À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2016

CRISTIANE CONTERNO DIPP

**CARACTERIZAÇÃO FISIO-MOLECULAR DE CULTIVARES DE
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) EM RESPOSTA À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Taciane Finatto

Co-orientador: Prof. Dr. José Abramo
Marchese

PATO BRANCO

2016

D596c

Dipp, Cristiane Conterno

Caracterização fisio-molecular de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em resposta à deficiência hídrica / Cristiane Conterno Dipp. 2016.

90 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Taciane Finatto

Coorientador: Prof. Dr. José Abramo Marchese

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, 2016.

Bibliografia: f. 72 – 79.

1. Feijão – Cultivo. 2. Feijão – Melhoramento genético. 3. Fisiologia vegetal. 4. Diagnóstico molecular. I. Finatto, Taciane, orient. II. Marquese, José Abramo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por:
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Câmpus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 139

CARACTERIZAÇÃO FISIO-MOLECULAR DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) EM RESPOSTA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

por

CRISTIANE CONTERNO DIPP

Dissertação apresentada às 14 horas do dia 30 de maio de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Abramo Marchese
UTFPR

**Dr. Sydney Antonio Frehner
Kavalco**
Epagri - Chapecó

Prof^a. Dr^a. Taciane Finatto
UTFPR
Orientadora

Prof. Dr. Giovani Benin
Coordenador do PPGA

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

Dedico, com grande carinho, aos meus pais Jamil da Fonseca Dipp e Maria Luiza Conterno Dipp.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e por iluminar meu caminho sempre.

Aos meus pais, Jamil e Maria Luiza por todo amor e incentivo em todos os momentos. Também agradeço minha irmã Jaqueline e ao André pelo grande apoio recebido.

Agradeço ao meu companheiro Thalís pela paciência, atenção e auxílio em algumas etapas da execução do experimento.

Ao professor José Abramo Marchese pela oportunidade e contribuição na orientação do projeto.

A professora Taciane Finatto agradeço imensamente pela orientação na condução deste trabalho, pela contribuição para o meu desenvolvimento profissional e intelectual, e ainda, por ser exemplo de comprometimento e motivação.

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal e Biologia Molecular que tiveram valiosa contribuição na realização deste trabalho e também a todos os funcionários da UTFPR, em especial o Sr. Otávio (casa de vegetação) – que auxiliaram para essa conquista.

“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista.”

Bill Gates

RESUMO

CONTERNO DIPP, Cristiane. CARACTERIZAÇÃO FISIO-MOLECULAR DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) EM RESPOSTA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.

A identificação de constituições genéticas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à deficiência hídrica (DH) é de grande importância para os programas de melhoramento genético. O objetivo deste trabalho foi caracterizar genótipos de feijão em resposta à DH no estágio reprodutivo por meio de análises fisiológicas, agrônomicas e moleculares. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições, utilizando 10 cultivares: ANFC 9, ANFP 110, BRS Esplendor, BRSMG Realce, IPR Siriri, IPR Tangará, IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru, IAC Imperador e IAC Milênio em duas condições de irrigação: plantas irrigadas durante todo o ciclo, e plantas submetidas a supressão de irrigação no estágio reprodutivo (R7), até o solo atingir 16% da capacidade de campo, quando a irrigação foi reestabelecida. Nos últimos quatro dias de estresse foram analisadas as trocas gasosas. No último dia de estresse foi analisado percentual de estômatos fechados na face abaxial das folhas durante o dia, e coletadas plantas para as seguintes análises: massa fresca e massa seca das folhas, hastes e legumes, e conteúdo de prolina em folhas e raízes. Na maturidade fisiológica foi realizada a colheita e avaliados os componentes do rendimento e estimada a produtividade de grãos. Adicionalmente, visando identificar polimorfismo sequências gênicas a promotoras relacionadas com a tolerância à DH, foram testados sete pares de *primers* no grupo de genótipos estudado. O índice de suscetibilidade à seca (ISS) variou de 0,65 a 1,10 no grupo de genótipos, sendo os menores valores observados para IAC Imperador (0,65) e BRS Esplendor (0,87) indicando a capacidade destes dois genótipos em manter a produtividade de grãos na condição de estresse. Todos os genótipos avaliados apresentaram redução nos componentes do rendimento quando estressados pela DH. IAC Imperador (43,4%) e BRS Esplendor (60,6%) apresentaram as menores reduções na produtividade e mantiveram cerca de 50% dos estômatos fechados em todos os horários analisados no último dia de DH. IAC Imperador apresentou maior eficiência no uso da água e taxa de assimilação de CO₂ na DH. IPR Tuiuiú, IPR Tangará e IAC Imperador apresentaram as maiores concentrações de prolina nas raízes. Na condição de DH, houve forte correlação positiva significativa entre percentual de estômatos fechados com número de grãos por legume (0,696) e massa fresca da folha (0,731), sendo o percentual máximo de estômatos fechados 73,71% em DH. O caractere acúmulo de prolina na raiz foi o que mais contribuiu para a divergência entre os genótipos na DH, porém, nem sempre os genótipos que mais acumularam prolina foram os mais tolerantes. Os polimorfismos no DNA de sequências codificadoras e promotoras dos fatores de transcrição estudados neste experimento não discriminaram os genótipos tolerantes dos sensíveis à DH.

Palavras-chave: Tolerância à seca, prolina, fechamento estomático, dissimilaridade genética, trocas gasosas, correlação.

ABSTRACT

CONTERNO DIPP, Cristiane. Physiological and molecular characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to drought. 90 f. Dissertation (Masters in Agronomy)– Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2016.

The identification of genotypes for drought tolerance has a great importance in breeding programs. The aim of this study was to characterize genotypes of beans in response to drought tolerance in different reproductive stages through physiologic, agronomic and molecular analysis. The experiment was conducted in greenhouse, using a randomized block design with four replicates; 10 cultivars: ANFC 9, ANFP 110, BRS Esplendor, BRSMG Realce, IPR Siriri, IPR Tangará, IPR Tuiuiu, IPR Uirapuru, IAC Imperador and IAC Milênio under two conditions of irrigation: plants irrigated during their entire life cycle, and plants under irrigation suppression in the reproductive stage (R7) until 16% of field capacity, when the irrigation was restored. In the last four days of stress, the gas exchanges were analyzed, and in the last day of stress was analyzed the percentage of closed stomata in the abaxial surface of the leaves, collected in different times of the day (9h, 12h, 15h and 18h). Additionally, plant samples were collected for the following analysis: fresh and dry mass of leaves, stems and legumes, and proline content in leaves and roots. The plants were harvested at the physiological maturity and the yield components and grain yield were determined. In addition, in order to identify polymorphisms in the sequences of promoters and genes related to drought, seven pairs of primers were tested on the group of genotypes. The drought susceptibility indexes (ISS) ranged from 0.65 to 1.10 in the group of genotypes, which the lowest values observed were for IAC Imperador (0.65) and BRS Esplendor (0.87), indicating the ability of these two genotypes to maintain grain yield under water stress condition. All genotypes showed reduction in yield components under water stress. IAC Imperador (43.4%) and BRS Esplendor (60.6%) had the lowest reductions in productivity and kept about 50% of the stomata closed during all the different times evaluated at last day of irrigation suppression. IAC Imperador showed greater water use efficiency and CO₂ assimilation rate under drought stress. IPR Tuiuiu, IPR Tangará and IAC Imperador had the highest proline concentrations in the roots. Under water stress condition, there was a strong positive correlation (0.696) between the percentage of stomata closed with the number of grains per plant (0.696) and the fresh mass of leaves (0.731), the maximum percentage of stomata closed 73.71% in water stress. The accumulation of proline in the root was the character that most contributed to the divergence between the genotypes under water deficit, but not always the genotypes that have accumulated more proline were the most tolerant. The polymorphisms in DNA of coding and promoting sequences of transcription factors studied in this experiment did not discriminate tolerant genotypes from the sensitive ones to water stress.

Keywords: Drought stress tolerance, proline, stomatal closure, genetic dissimilarity, gas exchange, correlation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) conduzidos em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, no período de agosto a novembro de 2015. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..... 31
- Figura 2 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) conduzidos em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, no período de agosto a novembro de 2015 com aplicação de fertilizante nitrogenado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....32
- Figura 3 – (A) Termociclador para PCR; (B) produto da PCR em gel de agarose (2%). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..... 39
- Figura 4 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, estressados pela DH doze dias após o corte da irrigação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..... 40
- Figura 5 – Índice de suscetibilidade à seca de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à DH no estágio R7. ISS (Índice de Suscetibilidade à Seca). Médias indicadas pelas mesmas letras não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....41
- Figura 6 – Desempenho de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliados em relação ao rendimento de grãos (Kg ha^{-1}) sem estresse e a redução no rendimento (%) causada pela DH aplicada no estágio R7. Capacidade de campo do solo no último dia de estresse: 16%. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....43
- Figura 7 – Percentual de estômatos fechados de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à DH no estágio R7, analisados em quatro horários distintos no último dia estresse em que a capacidade de campo do solo atingiu 16%. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....53
- Figura 8 – Dendrograma de dissimilaridade genética gerado a partir da matriz de distância Euclidiana, com agrupamento pelo método UPGMA mostrando as relações genéticas entre os 10 genótipos a partir dos resultados dos pares de iniciadores desenhados para genes e promotores responsivos ao déficit hídrico. Dissimilaridade média 0,22. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..... 70

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliadas, ciclo médio, hábito de crescimento, cor do grão e genealogia. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....30
- Tabela 2 – Denominação dos *primers*, seu *locus*, função, sequência de aminoácidos e tamanho do fragmento amplificado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....38
- Tabela 3 – Potencial hídrico (ψ_w) no xilema de 10 genótipos de feijão analisados com a Bomba de Sholander, submetidos a DH no estádio R7, com o solo em 16% da capacidade de campo. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....41
- Tabela 4 – Resumo da análise de variância para os componentes de rendimento de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco – PR, 2016.....42
- Tabela 5 – Média dos componentes de rendimento número de legumes por planta (NLP) e número de grãos por planta (NGP) 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..44
- Tabela 6 – Média dos componentes de rendimento massa de grãos por planta (MGP) e massa de cem grãos (MCG) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016..45
- Tabela 7 – Média dos componentes de rendimento número de grãos por legumes (NGL) e número de lóculos por legumes (NLL) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....45
- Tabela 8 – Média dos componentes de rendimento grãos falhos (GF) e Rendimento (Kg ha⁻¹) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....46
- Tabela 9 – Resumo da análise de variância para as trocas gasosas de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....48
- Tabela 10 – Análise de regressão polinomial para condutância estomática (CE) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....49
- Tabela 11 – Análise de regressão polinomial para transpiração (TR) e eficiência do uso da água (EUA) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....50
- Tabela 12 – Análise de regressão polinomial para taxa de assimilação de CO₂ (TAsCO₂) e para a concentração interna de CO₂ (CiCO₂) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....52
- Tabela 13 – Resumo da análise de variância para a massa fresca de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....55
- Tabela 14 – Médias da massa fresca das folhas (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....56
- Tabela 15 – Médias da massa fresca das hastes (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....57

Tabela 16 – Médias da massa fresca de legumes (g) de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	57
Tabela 17 – Resumo da análise de variância para a massa seca de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	58
Tabela 18 – Médias da massa seca das folhas (g) de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	59
Tabela 19 – Médias da massa seca das hastes (g) de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	59
Tabela 20 – Médias da massa seca de legumes (g) de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	60
Tabela 21 – Resumo da análise de variância para o conteúdo de Prolina (ug/mL) em folhas e raízes de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	60
Tabela 22 – Conteúdo de Prolina (ug/mL) em folhas e raízes de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	61
Tabela 23 – Correlação de Pearson entre os caracteres avaliados em 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	64
Tabela 24 – Contribuição relativa dos caracteres para a divergência entre os genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) baseada na distância generalizada de Mahalanobis em análise com 10 genótipos submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	67
Tabela 25 – Formação de grupos incluindo os 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) segundo o método de otimização de Tocher com base na distância generalizada de Mahalanobis. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.....	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CE	Condutância estomática
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
CiCO ₂	Concentração interna de CO ₂
CV	Coeficiente de variação
DH	Deficiência hídrica
EUA	Eficiência do Uso da Água
GF	Número de grãos falhos por legume
NGP	Número de grãos por planta
NLL	Número de lóculos por legume
NLP	Número de legumes por planta
MCG	Massa de cem grãos
MGP	Massa de grãos por planta
MFF	Massa fresca de folhas
MFR	Massa fresca da raízes
MFH	Massa fresca de hastes
MFL	Massa fresca de legumes
MSF	Massa seca de folhas
MSR	Massa seca de raízes
MSH	Massa seca de hastes
MSL	Massa seca de legumes
NGL	Número de grãos por legume
R7	Estádio de desenvolvimento do feijoeiro R7 (florescimento)
Ψ_w	Potencial hídrico no xilema
Rend	Rendimento de grãos (Kg ha ⁻¹)
r	Coeficiente de correlação
TAsCO ₂	Taxa de assimilação de CO ₂
TR	Transpiração
MDS	Bidimensional da escala multidimensional
UPGMA	Hierárquico da distância média
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Geral.....	28
3.2 Específicos.....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Obtenção do Material Vegetal.....	29
4.1.2 Análises dos parâmetros fisiológicos e agrônômicos.....	32
4.2 Análises Moleculares.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1 Análises de intensidade do estresse aplicado e índice de suscetibilidade ao estresse (ISS).....	40
5.2 Análises de parâmetros fisiológicos e agrônômicos.....	42
5.3 Análises Moleculares.....	68
6 CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

O feijão representa uma das mais importantes fontes de proteína vegetal para a alimentação humana e é consumido diariamente por grande parte da população brasileira. O Brasil destaca-se como terceiro maior produtor (FAO, 2012) dessa leguminosa e estima-se que, atualmente, o brasileiro consuma 17 Kg de feijão/por ano (SOUZA et al., 2013).

Devido à grande importância de leguminosas secas como o feijão na alimentação humana do mundo inteiro, a 68ª Assembleia Geral da ONU (Organização das Nações Unidas) declarou "2016 o Ano Internacional das Leguminosas" (*International Year of Pulses*) com o tema: "Sementes Nutritivas para um Futuro Sustentável". Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura), as leguminosas secas (feijão, ervilha, grão-de-bico, lentilhas) representam uma fonte alternativa de proteínas mais barata do que as encontradas nas carnes. Elas também têm o dobro das proteínas do trigo e o triplo do arroz, são ricas em micronutrientes, aminoácidos e vitamina B, substâncias que as tornam componentes essenciais de uma dieta saudável (FAO, 2015).

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é de grande importância para o Brasil e especificamente para a região Sudoeste do Paraná estando entre as principais alternativas geradoras de renda para os agricultores no plantio da "safrinha", ou plantio de segunda época ("safra da seca"). A maior parte da produção é realizada por agricultores familiares que não dispõe de irrigação em suas lavouras. Desta forma, ocorre a dependência de condições climáticas adequadas para explorar o máximo do potencial de produção da cultura e proporcionar o retorno do investimento realizado pelo produtor.

A escassez de chuvas é uma realidade em muitas regiões produtoras e pode ser observada de duas formas: pela falta absoluta de chuvas ou pela má distribuição delas durante o ciclo do feijoeiro. Em geral, a seca atinge quase todas as lavouras de feijoeiro sem irrigação no Brasil. Os dois tipos de seca, não causam prejuízos apenas no Brasil, mas também, em aproximadamente, 60% das lavouras de outros países da América Latina (THUNG e OLIVEIRA, 1998). Os estresses causados pela falta de água afetam o rendimento da cultura em qualquer estágio de

desenvolvimento desde a germinação das sementes e todos os aspectos de crescimento da parte aérea e raiz (CEPEF, 2000). A deficiência hídrica (DH) é consequência de um período contínuo ou transitório de seca que provoca redução no crescimento das plantas, na expansão celular, condutância estomática, fotossíntese e assimilação de nitrogênio pelas plantas (RODRIGUES et al, 1998; PIMENTEL e PEREZ, 2000).

O feijoeiro consome cerca de 300 mm de água durante todo o ciclo. O consumo de água é determinado pelas condições meteorológicas e pelo crescimento e desenvolvimento das plantas (CEPEF, 2000). A capacidade de aclimação à seca e de recuperação de uma cultivar varia com a velocidade e intensidade do estresse e é dependente de cada genótipo. Os mecanismos morfofisiológicos e bioquímicos como, por exemplo, maior controle do fechamento estomático, a suberização e produção de cera na cutícula, menor resistência hidráulica na raiz por enraizamento mais profundo, controle do potencial osmótico das células ocorrem devido à expressão de vários genes relacionados com a tolerância das plantas ao estresse (SHINOZAKI e YAMAGUCHI – SHINOZAKI, 1997; PIMENTEL e PEREZ, 2000).

A produtividade do feijoeiro no Brasil cresceu 25% na última década, contudo, os dados de produtividade da safra 2014/15 de 1025 Kg ha⁻¹ (CONAB, 2016) mostram que a média ainda está muito aquém do potencial produtivo das cultivares. Isto se deve, principalmente, a interferência de fatores bióticos e também abióticos como a seca, um dos fatores que mais limitam a produtividade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O gênero *Phaseolus* teve sua origem nas américas e possui cerca de 55 espécies das quais cinco são cultivadas: *P. vulgaris* (Feijão comum), *P. lunatus* L. (Feijão espadinho, Feijão verde), *P. coccineus* L. (Feijão-da-Espanha, Feijão de sete anos), *P. acutifolius* Gray var. *latifolius* Freeman e *P. polyanthus* Greenman (DEBOUCK et al., 1993). Destas, o feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.) é a espécie mais importante e a mais cultivada nos cinco continentes.

Ao final do século XIX, observações feitas em amostras arqueológicas encontradas primeiramente no Peru e, posteriormente no sudoeste dos Estados Unidos indicaram a origem americana do feijão (FREITAS, 2001). Atualmente existe um grande número de amostras arqueológicas de feijão, com idades que chegam até 10.000 anos, encontradas desde o sudoeste dos EUA, passando pela América Central e continuando pela região Andina da América do Sul até o centro-norte da Argentina e Chile (GEPTS e DEBOUCK, 1991).

A partir de meados do século XX populações de feijões selvagens começaram a ser estudadas e entre os aspectos relevantes no processo de domesticação do feijoeiro foram descritas as características morfológicas das populações selvagens, distribuição geográfica dessas populações e as relações genéticas existentes entre plantas selvagens e domesticadas (GEPTS e DEBOUCK, 1991).

De acordo com características, como tamanho das sementes e tipos de faseolina, três centros de domesticação foram definidos para a espécie *Phaseolus vulgaris*: um na região central das Américas (Mesoamérica), onde os feijões apresentavam sementes pequenas (<20 g /100 sementes) e faseolina do tipo 'S'; outro no sul dos Andes (Andino), em que predominam germoplasma de grãos grandes (>40 g /100 sementes) e faseolina 'T'; e o último centro, no norte do Andes (Colômbia), com faseolina do tipo 'B' e feijões de sementes pequenas. Os dois centros de maior importância são o mesoamericano e andino (GEPTS e BLISS, 1985; GEPTS et al., 1986).

Do ponto de vista taxonômico, o feijoeiro comum é o verdadeiro protótipo do gênero *Phaseolus*, classificado por Linnaeus em 1753. *P. vulgaris*

pertence à Classe Eudicotyledoneae, Ordem Fabales, Família Leguminosae/Fabaceae – Papilionoideae (APG III, 2009).

Em um cenário mundial verifica-se que o feijão segue a linha dos alimentos de consumo rápido em que não se observa grandes estoques de passagem, ou seja, o consumo está diretamente ligado ao volume de produção (BRANDALIZZE, 2015). O último relatório da FAO de 2012 mostra que a produção mundial de feijões secos atingiu 20 milhões de toneladas e o Brasil está em terceiro lugar no ranking de produção com 2,8 milhões de toneladas. Na safra 2014/15 a produção nacional de feijão totalizou 3,1 milhões de toneladas e a perspectiva para 2015/16 é chegar a 3,3 milhões (CONAB, 2015).

No Brasil, o cultivo de *P. vulgaris* é realizado em diversos níveis de tecnologia e épocas do ano: primeira época ou “safra das águas”, segunda época ou “safra da seca” e a terceira, “safra de outono/inverno” (SOUZA et al., 2013). A produção brasileira está distribuída em vários estados: o estado do Paraná destaca-se como maior produtor, seguido por Minas Gerais, Mato Grosso e Bahia, que juntos representam 62,8% da produção nacional. Ceará, Goiás, São Paulo e Santa Catarina produzem atualmente 19,2% da produção nacional (MAPA, 2015).

Os vegetais estão expostos a múltiplos agentes bióticos e abióticos que, quase sempre, causam efeito negativo no seu crescimento e desenvolvimento, e afetam a produção mundial de alimentos. Os fatores climáticos (abióticos) promovem grande impacto no desempenho produtivo do feijoeiro e, muitas vezes, um fator de estresse não ocorre de forma isolada. A DH pode ocorrer em conjunto com altas temperaturas e altos níveis de radiação.

A água desempenha um papel fundamental na vida das plantas. Na fotossíntese, ao mesmo tempo que elas retiram dióxido de carbono (CO₂) do ar ficam expostas à perda de água. Esse processo em que a água é liberada para o ambiente através dos estômatos é fundamental para o resfriamento e equilíbrio térmico das células vegetais, mas, também ficam expostas a desidratação caso o suprimento de água não seja adequado.

P. vulgaris é uma planta com metabolismo C3, caracterizando-se pela capacidade fotossintética limitada e baixa eficiência no aproveitamento de água (FANCELLI, 2015).

O sistema radicular do feijoeiro é bastante superficial e é típico de uma planta dicotiledônea anual. É formado por uma raiz principal ou primária, da qual se desenvolvem lateralmente raízes secundárias e terciárias que apresentam nódulos colonizados por bactérias fixadoras de nitrogênio (BASU et al., 2007; SILVA e COSTA, 2003).

O caule herbáceo é formado por uma sucessão de nós e entrenós, onde estão inseridos, no primeiro nó, os cotilédones; no segundo, as folhas primárias – que são simples e opostas; e a partir do terceiro as folhas trifoliadas. O caule pode apresentar pigmentação e pilosidade e o crescimento pode ser determinado ou indeterminado (SILVA e COSTA, 2003).

O feijoeiro é uma planta herbácea, anual, trepadeira ou não. Espécies do gênero *Phaseolus* são amplamente distribuídas em todo o mundo, especialmente de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), mas, o número de espécies do gênero ainda é desconhecido, revisões indicam a existência de 31 a 52 (DEBOUCK, 1991, 1999, apud SILVA e COSTA, 2003). Os genótipos também se diferenciam quanto ao hábito de crescimento e estão classificados, de acordo com o CIAT, em quatro tipos principais (OSPINA O. e DEBOUCK, 1981):

- Tipo I – hábito de crescimento determinado, arbustivo e porte da planta ereto.
- Tipo II – hábito de crescimento indeterminado, arbustivo, porte da planta ereto e caule pouco ramificado.
- Tipo III – hábito de crescimento indeterminado, porte prostrado ou semi-prostrado, com ramificação bem desenvolvida e aberta.
- Tipo IV – hábito de crescimento indeterminado, porte trepador, o caule possui forte dominância apical e um número reduzido de ramos laterais, pouco desenvolvidos.

Hábitos intermediários podem ocorrer entre os hábitos indeterminados e são detectados durante o florescimento e a maturação fisiológica, por exemplo entre os hábitos II e III; III e IV, além de outras variações (MUÑOZ et al., 1993; SILVA, 1999). O porte da planta resulta de vários fatores hereditários em interação com condições ambientais caracterizados como ereto, semi-ereto e prostrado (FONT QUER, 1979, apud SILVA, 2005).

Dependendo do hábito de crescimento do feijoeiro os órgãos

vegetativos continuam crescendo durante o estágio reprodutivo. Isso pode ser observado em cultivares de hábito indeterminado em que acontece sobreposição de fases de desenvolvimento, o que interfere na relação fonte-dreno e altera a distribuição de assimilados pela planta (BEZERRA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2015).

P. vulgaris é uma espécie diploide que apresenta seu número básico 22 cromossomos ($n=x=11$). Seu genoma totaliza 521.1 Mb incluindo 27.197 locos contendo 31.638 transcritos codificadores de proteínas (SCHMUTZ et al., 2014). De acordo com o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 1980) o feijoeiro comum (*P. vulgaris*) é uma planta autógama, por ser dotada de órgãos reprodutivos envolvidos pelas pétalas, a polinização ocorre antes da abertura da flor. Mas, ainda assim, existe a probabilidade de cruzamento natural no campo. A flor do feijoeiro pode ser branca, rosa ou violeta, uniforme para toda a corola ou bicolor (desuniforme) (MUÑOZ et al., 1993).

O fruto é uma vagem formada por duas partes (valvas) e pode ter forma reta, arqueada ou recurvada; a cor pode ser uniforme ou não. As sementes podem ter várias formas: arredondada, elíptica, reniforme ou oblonga e é constituída, externamente, do tegumento que apresenta uma ampla variedade de cores, variando do preto, bege, roxo, róseo, vermelho, marrom, amarelo e até o branco. O tegumento pode apresentar uma cor uniforme ou estrias, manchas e pontuações. A grande variabilidade de características externas da semente tem sido usada para diferenciar e classificar cultivares de feijão em grupos ou tipos comerciais distintos (SILVA, 2005).

Durante o crescimento e desenvolvimento do feijoeiro, desde a germinação das sementes até o estágio que completa a formação de grãos, a ocorrência de seca promove prejuízos no rendimento de grãos.

Os estádios de desenvolvimento estão separados em duas fases: vegetativa e reprodutiva. A primeira inicia quando a semente dispõe de condições favoráveis para germinar e termina com o aparecimento dos primeiros botões florais. Neste período se forma a maior parte da estrutura vegetativa que a planta precisa para iniciar sua reprodução. A fase reprodutiva começa com o aparecimento dos primeiros botões ou racemos florais e termina quando o grão atinge maturidade

suficiente para a colheita. Nesta fase, genótipos com hábito de crescimento indeterminado (tipo II, III e IV) continuam produzindo estruturas vegetativas (FERNÁNDEZ et al., 1986).

De acordo com a Comissão Estadual de Pesquisa de Feijão (CEPEF, 2000) as fases vegetativas e reprodutivas estão identificadas, em dez etapas bem definidas, denominados de estádios de desenvolvimento do feijoeiro, sendo que estádios denominados com a letra 'V' significa que o feijoeiro encontra-se no estágio vegetativo e, com a letra 'R', reprodutivo. Ainda, cada etapa começa quando 50% das plantas apresentam as condições relativas ao estágio:

- V0 (Germinação): absorção de água pela semente; emissão da radícula e sua transformação em raiz primária.
- V1 (Emergência): os cotilédones aparecem ao nível do solo, separam-se e o epicótilo começa o seu desenvolvimento.
- V2 (Folhas primárias): folhas primárias totalmente abertas.
- V3 (Primeira folha trifoliada): abertura da primeira folha trifoliada e aparecimento da segunda folha trifoliada.
- V4 (Terceira folha trifoliada): abertura da terceira folha trifoliada e formação de ramos nas gemas dos nós inferiores.
- R5 (Pré-floração): aparecimento do primeiro botão floral e do primeiro racemo. Os botões florais das variedades determinadas se formam no último nó do talo e do ramo. Nas variedades indeterminadas os ramos aparecem primeiro nos nós mais baixos.
- R6 (Floração): abertura da primeira flor.
- R7 (Formação de vagens): aparecimento da primeira vagem até apresentar 2,5 cm de comprimento.
- R8 (Enchimento das vagens): início de enchimento da primeira vagem (crescimento da semente). Ao final do estágio, as sementes perdem a cor verde e começam a mostrar a característica da variedade. Início da desfoliação.
- R9 (Maturação fisiológica): as vagens perdem sua pigmentação e começam a secar. As sementes desenvolvem a cor típica da variedade.

Em condições de seca, a época de maior risco de redução de

produtividade do feijão ocorre antes da emergência das sementes e entre o início da floração até vinte dias após (SILVA, 2005). Bergamaschi et al. (1988) também verificaram que os estádios de floração, formação e desenvolvimento de legumes em feijão, foram os mais prejudicados pela deficiência hídrica.

A nutrição e absorção de nutrientes pelas raízes das plantas também são prejudicadas pela deficiência hídrica, já que a água é um dos fatores com maior influência. Em condições de seca, há redução na absorção de nutrientes pelas plantas devido à menor mobilidade dos íons no solo, menor absorção de água pelas raízes e, conseqüentemente, pelo menor fluxo de massa de nutrientes.

Em estudo com feijoeiro em casa de vegetação, sob condições adequadas de suprimento de água, Haag et al. (1967), analisaram os teores de nutrientes das folhas com 40 dias após a germinação e obtiveram as concentrações para nitrogênio, fósforo e potássio de 1,68%, 0,25% e 3,4% respectivamente. O período entre 40 e 45 dias após a germinação coincide com o período reprodutivo (florescimento) de grande parte das cultivares. No mesmo sentido, análises foliares realizadas por Vieira (2006), em pleno florescimento com a cultivar de feijão BRS-MG Talismã, em sistema de plantio direto, resultaram em concentrações de nitrogênio de 3,86%, fósforo, 0,30% e o teor de potássio resultou em 2,25%. Mauad et al., (2011) verificaram que a DH diminuiu os níveis de macronutrientes na massa seca de cultivares de arroz, portanto tiveram a absorção de nutrientes prejudicados pela seca.

Quando submetidas à DH as plantas desenvolvem alguns mecanismos de respostas a esse tipo de estresse, que se resumem em três principais eventos: percepção dos sinais, respostas em nível molecular e respostas morfofisiológicas (BRAY, 1993; MENESES et al, 2006).

O feijoeiro é considerado uma espécie com pouca tolerância a DH severa. Conforme Rodrigues et al. (1998) a duração, severidade e frequência com que um estresse é imposto, bem como os órgãos e tecidos afetados, fases de desenvolvimento e o genótipo influenciam na resposta das plantas ao estresse.

A maior parte da água utilizada pelas plantas é absorvida pelas raízes a partir do solo. De acordo com Christmann et al. (2013) as plantas realizam a translocação da água do solo para o ar ao longo de tecidos vegetais através da

diferença do gradiente de potencial hídrico com valores mais baixos nas folhas; se o gradiente for inverso, a água vai tomar o caminho oposto. Alguns autores sugerem que o sistema radicular funciona como um sensor primário da DH quando ocorre a queda do conteúdo de água do solo (PIMENTEL, 2004).

Quando a quantidade de água do solo começa a diminuir, as plantas continuam com seu metabolismo e a taxa de transpiração permanece normal até um nível crítico de restrição de água, em que começam a aparecer os efeitos primários de desidratação na planta, observados através da perda de turgidez (Ψ_p) das células do mesófilo e redução no potencial hídrico (Ψ_w) da planta (ROSA et al., 1991; LARCHER, 2006). Isso provoca alterações na parede celular e na conformação da membrana plasmática que possuem moléculas sinalizadoras e essas modificações ativam complexos enzimáticos que iniciam uma cascata de eventos moleculares e que levam à indução da expressão de várias categorias de genes (SHIINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997). Para plantas de feijão, valores de Ψ_w em torno de -1,5 MPa, são considerados limite para a recuperação de feijoeiro (BOYER, 1976).

Em nível molecular, sob condições de estresse, as plantas ativam cascatas de sinalização que suprimem ou aumentam a expressão de genes alvo. Os fatores de transcrição (FTs) são proteínas que regulam a transcrição gênica, desta forma, as modificações nas atividades dos FTs alteram dinamicamente o transcrito, ocasionando alterações metabólicas e fenotípicas em resposta a determinado estímulo ambiental (MITSUDA e OHME-TAKAGI, 2009). Em eucariotos, a regulação transcricional é mediada pelo recrutamento de FTs que reconhecem e ligam-se a elementos regulatórios de ação cis (ERAC), que são pequenas sequências de DNA presentes na região promotora dos genes. Os FTs interagem com estes ERACs específicos, com outros FTs, e com a maquinaria basal de transcrição para regular a expressão dos genes alvo (PRIEST et al., 2009).

Na espécie de *P. vulgaris* existem estudos utilizando abordagens transcritômicas (MICHELETO et al., 2007; RECCHIA et al., 2013) e proteômicas (ZADRAŽNIKA, et al., 2013) para identificar genes associados com a tolerância à seca. Entretanto, os estudos com transformação genética, servem como ferramenta para identificar o efeito de determinado gene no fenótipo ainda são escassos.

Zadražnik et al. (2013), analisaram o proteoma de duas cultivares de feijão contrastantes para a tolerância à seca, observaram que a maioria das proteínas diferencialmente expressas na cultivar tolerante foram classificadas em categorias funcionais que incluem metabolismo energético, fotossíntese, interconversão de ATP, síntese de proteínas e proteólise e proteínas relacionadas a estresses e defesas.

Outro estudo analisando a expressão gênica pela técnica de hibridização subtrativa supressiva (SSH), Recchia et al. (2013) identificaram padrões de expressão de ESTs (etiquetas de sequências expressas), putativamente relacionadas a resposta à seca em um genótipo tolerante. Porém, estes autores verificaram que a expressão dos genes associados às ESTs não foi exclusiva do genótipo tolerante, uma vez que diferentes níveis de transcrição foram também detectados no genótipo sensível. Estes autores identificaram, ainda, sequências codificadoras de FTs, metabolismo dos carboidratos, proteínas ricas em prolina, aquaporinas, chaperonas e ubiquitinas.

Genes alvo expressos em resposta à DH promovem: tolerância da célula à desidratação; funções de proteção do citoplasma; alterações no potencial osmótico (acúmulo de osmólitos compatíveis, como a prolina, glicina e betaína) celular para aumentar a absorção de água; controle do acúmulo de íons; regulação adicional da expressão gênica; metabolização de compostos degradados pelo estresse; outros (BRAY, 1993; NEPOMUCENO et al., 2000).

Como consequência da desidratação celular, propriedades físicas e bioquímicas das células são diretamente alteradas, e dão origem a efeitos secundários como redução na expansão celular e foliar, redução das atividades metabólicas da célula, fechamento estomático (PAIVA et al., 2005), inibição fotossintética, abscisão foliar, alteração na partição de carbono, cavitação, desestabilização de membranas e proteínas (BOYER, 1982), produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), citotoxicidade iônica e morte celular (APEL; HIRT, 2004; MØLLER et al. 2007; PEREIRA et al, 2012).

Com objetivo de minimizar os efeitos da DH e para a manutenção do turgor nas células as plantas desencadeiam vários eventos fisiológicos e bioquímicos que podem ser considerados como mecanismos de tolerância à seca.

Genótipos mais tolerantes apresentam melhor eficiência no uso da água (EUA) e esta importante variável fisiológica é obtida a partir da razão entre a taxa fotossintética e a taxa de transpiração. A EUA pode variar entre e dentro das espécies vegetais, e expressa quantitativamente o desempenho momentâneo das trocas gasosas na folha. A melhor EUA está relacionada a muitos aspectos fisiológicos, em especial à fotossíntese e a condutância estomática (NOGUEIRA et al., 2004).

Para diminuir a perda de água através da transpiração e possível manutenção do turgor, vários autores verificaram fechamento dos estômatos e conseqüentemente queda na condutância estomática. Oliveira et al., (2005), observaram que quanto maior a severidade do estresse em plantas de feijão, mais acentuada a queda na condutância estomática e transpiração. Em feijão-caupi também foi verificado redução na condutância estomática e na perda de água através da transpiração em função da baixa disponibilidade de água no solo (DUTRA et al., 2015).

Em condições de estresse, um importante hormônio que regula o fechamento dos estômatos é o ácido abscísico (ABA) e a grande maioria de genes acionados pela DH, são induzidos pelo ABA (BRAY, 1993, 2001; CHRISTMANN, 2013).

Com os estômatos fechados ocorre redução na perda de água, mas também diminui a absorção de dióxido de carbono (CO_2) pela planta, resultando em diminuição ou cessação do crescimento. A água é um componente essencial na reação fotossintética: nas trocas gasosas, durante a fotossíntese, a planta fixa CO_2 e libera O_2 , e na respiração, a planta libera CO_2 e consome O_2 . Quanto mais CO_2 é consumido na fotossíntese do que liberado pela respiração ocorre a assimilação aparente ou fotossíntese líquida, em contraste à fotossíntese bruta, a qual designa o total de CO_2 fixado (LARCHER, 2006). Além do fechamento dos estômatos vários outros mecanismos relacionados a fotossíntese são afetados pela DH. No processo fotossintético a água atua na liberação de prótons e elétrons da etapa fotoquímica e também na mobilização de fotoassimilados (CHAVARRIA e SANTOS, 2012).

A área foliar também é um importante fator que determina o uso da água pelas plantas (FERNÁNDEZ et al., 1996), em condições de seca as plantas

poderão emitir folhas menores, diminuir quantidade de folhas emitidas e em casos mais severos, dependendo da intensidade do estresse, poderá ocorrer senescência (Rodrigues et al., 1997) e abscisão foliar. Oliveira et al., (2014), observaram redução no índice de área foliar em plantas de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob DH no estágio vegetativo e no florescimento.

Outro mecanismo, bastante comum, para manter a turgescência das células e o potencial hídrico próximo ao nível adequado, é o acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular no citosol como açúcares solúveis, prolina e aminoácidos livres (NEPOMUCENO et al, 2001; PEREIRA et al, 2012).

Prolina é um aminoácido que parece ser o soluto mais largamente distribuído em organismos, de bactérias a plantas, especialmente quando expostos a estresses ambientais, podendo ser usado como regulador osmótico, protetor enzimático, esqueleto carbônico e reserva de amins para a síntese de novo e reinício de crescimento quando o estresse acaba. O aumento no conteúdo de prolina é usado como parâmetro para a resistência ou tolerância a falta de água na seleção de materiais com alta resistência (YAMADA et al., 2005). Por outro lado, Sawazaki et al. (1981) concluíram que materiais acumuladores de prolina são sensíveis a esse tipo de estresse.

A DH ocorre não somente em função da seca, mas também em condições de frio e salinidade, implicando, provavelmente na diminuição da pressão de turgor em nível celular. Estudos realizados com pimentão (*Capsicum annuum* L.; cv. ELISA) confirmam o aumento da atividade da SOD e da concentração de prolina em plantas submetidas ao estresse salino. Nesse caso, o estresse causado pelo aumento da concentração de minerais do solo, que por sua vez, aumentam a condutividade elétrica (CE) inibiu a atividade da enzima CAT, ainda, Leonardo et al. (2014) concluíram que a atividade dessas enzimas e o conteúdo de prolina podem ser usados como indicadores do nível de estresse em plantas de pimentão.

Considerando as projeções (OECD, 2010) de que a população mundial deverá atingir nove bilhões de pessoas em 2050 e que a produção de alimentos terá que dobrar a partir dos níveis atuais deverá ocorrer uma intensificação no uso da terra através da agricultura e pecuária. Neste cenário ainda existem projeções de aumento das temperaturas médias ocasionadas pelo

crescimento industrial das cidades e aumento da emissão de gases de efeito estufa. Estima-se, então, que a ocorrência de secas seja o principal fator limitante para a produção de grãos (NEPOMUCENO et al., 2011). O rendimento de grãos (kg ha^{-1}) é a característica economicamente mais importante e, por consequência, a que mais reflete os efeitos da DH (AGUIAR et al, 2008). Em feijão ocorrem problemas desde a germinação de sementes, sobrevivência de plântulas, menor vigor no crescimento e no estabelecimento da cultura e redução na produção.

Períodos de seca ocorrem em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura causando vários níveis de danos que prejudicam o rendimento das lavouras. Dependendo da época em que o estresse ocorre poderá ocasionar atraso ou antecipação da maturação fisiológica da planta, contudo a abscisão de flores e vagens foi observada tanto no florescimento quanto no período de formação das vagens (BERGAMASCHI et al., 1988).

Gonçalves (2013) verificou que o estresse hídrico em feijoeiro comum a partir do estágio V3/V4 mantido até a fase reprodutiva, R8, afetou a produtividade de grãos pela baixa porcentagem de vingamento de flores e maior quantidade de vagens chochas em função dos óvulos abortados. Da mesma forma, Oliveira et al, (2014), observaram que a DH aumentou o abortamento de flores e vagens de plantas de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) quando submetidos à seca.

Nos últimos anos, o melhoramento de plantas tem obtido grande êxito em aumentar o potencial produtivo das culturas, e deve se preparar para enfrentar os novos desafios decorrentes das alterações climáticas globais previstas para as próximas décadas. A fisiologia das plantas, a biologia molecular e o melhoramento genético desempenharão um papel "chave" nesse processo. Desta forma, estudos relacionados à tolerância à seca serão indispensáveis, já que esse é o estresse abiótico mais complexo e de maior efeito sobre as culturas e o principal fator que deve limitar a produção mundial de alimentos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o desempenho de dez genótipos de feijão em resposta a DH no florescimento.

3.2 Específicos

Analisar os parâmetros fisiológicos como eficiência do uso da água, taxa de assimilação de CO₂, transpiração, concentração interna de CO₂, condutância estomática, acúmulo de prolina em raízes e folhas, massa seca e fresca de raízes, folhas, hastes e legumes.

Analisar parâmetros agronômicos relacionados à produtividade de grãos como número de grãos por planta, número de grãos por legume, número de grãos falhos, massa de grãos por planta, massa de cem grãos e rendimento de grãos.

Identificar polimorfismos genéticos em sequências codificadoras e promotoras de fatores de transcrição responsivos à DH.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção do Material Vegetal

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com circulação forçada de ar, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada no município de Pato Branco-PR. Foram utilizadas dez cultivares comerciais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (ANFC 9, BRSMG Realce, IPR Uirapuru, IPR Tuiuiu, ANFP 110, IPR Tangará, IAC Imperador, IAC Milênio, BRS Esplendor e IPR Siriri) cujas características estão apresentadas na Tabela 1.

O plantio das cultivares ocorreu no dia 25 de agosto de 2015, em vasos, sob o delineamento experimental de blocos casualizados com 4 repetições, sendo cada unidade experimental composta por cinco vasos. Quatro sementes de cada genótipo foram semeadas por vaso e oito dias após a germinação foi realizado o raleio manual restando duas plântulas por vaso (Figura 1). As folhas das plantas desbastadas dos vasos foram coletadas e congeladas (- 80 °C) para extração do DNA. Durante a coleta, foi utilizado nitrogênio líquido para congelamento imediato das amostras.

O solo utilizado no experimento foi corrigido conforme análise de solo (Anexo 1), a adubação ocorreu de acordo com as recomendações do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR, 2003) para a cultura do feijão. No estádio V4 foi realizada aplicação de fertilizante nitrogenado em cobertura, 2 g vaso⁻¹ de fertilizante nitrogenado, com 45% de N (Figura 2), e todo o manejo fitossanitário foi realizado de forma preventiva, para evitar a ocorrência de pragas e doenças.

As dez cultivares foram submetidas a duas condições: uma foi denominada de controle, que recebeu irrigação durante todo o ciclo da cultura e o outro de DH (R7), com supressão da irrigação no estádio reprodutivo (R7).

Para a irrigação das plantas foi usado o sistema de gotejamento e as plantas foram mantidas em condição de casa de vegetação, sob temperatura que variou entre 12°C e 34,1°C durante o ciclo.

O nível de DH foi aferido pela capacidade de campo em percentual de água no solo. Antes do plantio dos genótipos, todos os vasos foram pesados para

que apresentassem com a mesma quantidade de solo de mesma textura, ou seja, 5 kg em cada um.

No momento da supressão da irrigação, no estágio R7 todos os vasos, tanto do controle quanto da DH (R7) foram saturados com água, e após, foram retiradas as pontas de irrigação (gotejamento) daqueles cujos genótipos receberam o corte da irrigação.

Tabela 1 – Cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliadas, ciclo médio, hábito de crescimento, cor do grão e genealogia. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Cultivares	Ciclo médio (dias)	Hábito de Crescimento	Cor do Grão	Genealogia
ANFC9	94	Indeterminado	Bege claro	
BRSMG Realce	77	Determinado - Tipo I	Bege com rajadas e pontuações vermelhas	Cruzamento entre as linhagens PR 95105259 e PR 93201472
IPR Uirapuru	86	Indeterminado - Tipo II	Preto	BAC29/PR1711/3/NEP2/2/PUEBLA173/ICAPIJÃO
IPR Tuiuiu	88	Indeterminado - Tipo II	Preto	Originou-se do cruzamento entre a linhagem melhorada LP96-72 (IPR Uirapuru) e a cultivar Xamengo.
ANFP110	85	Indeterminado	Preto	
IPR Tangará	87	Determinado - Tipo II	Bege claro a cinza, com listras marrons	Originou-se do cruzamento entre a linhagem melhorada LP95-92, que é descendente de IAPAR 31, e a cultivar Pérola
IAC Imperador	75	Determinado - Tipo I	Bege claro a cinza, com listras marrons	Originou-se de cruzamentos múltiplos entre as cultivares de IAC Carioca Eté e Carioca precoce, retrocruzamentos da F1 com IAC Carioca Eté.
IAC Milênio	95	Indeterminado - Tipo III	Bege claro a cinza, com listras marrons	Gen 96A98 x (Pérola x Ouro Negro)
BRS Esplendor	85	Indeterminado - Tipo II	Preto	Originou-se do cruzamento entre CB911863 e AN9123293
IPR Siriri	85	Indeterminado - Tipo II	Bege claro a cinza, com listras marrons	Cruzamento entre as cultivares IAPAR 31 e IAC Akitã



Figura 1 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) conduzidos em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, no período de agosto a novembro de 2015. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Quando as plantas apresentaram resultados visuais de estresse, como murcha e abscisão de folhas, flores e vagens, o nível de DH foi medido através do percentual de redução de água em relação a capacidade de campo que consistiu na diferença de massa dos vasos, obtidos no dia em que estes foram saturados com água para iniciar o estresse e no dia em que o período de estresse encerrou, antes das plantas serem reidratadas. E a segunda forma de avaliação, ocorreu através da medida do potencial hídrico (Ψ_w) no xilema de acordo com Scholander (1966), por meio do uso de câmara de pressão tipo SAPS II (modelo 3115 da Soil Moisture – USA), para a qual foram utilizados os pecíolos dos trifólios localizados na região intermediária das plantas de feijão.

O pecíolo foi cortado com lâmina e então cada trifólio foi imediatamente acondicionado na câmara de pressão, ficando somente o pecíolo para fora e a câmara foi imediatamente vedada. O trifólio foi submetido a um acréscimo constante de pressão até a primeira gota de seiva aparecer no corte do pecíolo. Neste momento foi registrada a pressão que apareceu no manômetro. Este procedimento foi realizado sempre antes do nascer do sol, entre 5 e 6 horas da manhã. Por ser um método destrutivo, as plantas cujas folhas foram removidas para análise, não foram utilizadas em outras análises, sendo, deste modo, descartadas.



Figura 2 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) conduzidos em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, no período de agosto a novembro de 2015 com aplicação de fertilizante nitrogenado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

4.1.2 Análises dos parâmetros fisiológicos e agronômicos

As análises de trocas gasosas que inclui a taxa de assimilação de CO_2 (TAsCO_2) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (CE) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência no uso da água (EUA), taxa de transpiração (TR) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração intercelular de CO_2 (CiCO_2) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$], foram realizadas das 9 às 12 horas. Utilizando o sistema aberto de medição de trocas gasosas equipado com um analisador infravermelho de gases (IRGA – *Infra-red Gas Analyzer*) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA) com fonte artificial de luz vermelha e azul e sistema de injeção de CO_2 . As avaliações foram realizadas em folhas completamente desenvolvidas e saudáveis de três plantas por bloco. As condições microclimáticas na câmara de medidas foram mantidas constantes em todas as medições, com temperatura de $\pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de PAR (*photosynthetic active radiation*), e 400 ppm de CO_2 . Essas avaliações ocorreram durante os quatro dias que precederam reidratação das plantas, em R8 em solo com 16% da capacidade de campo.

Para as avaliações do número de estômatos abertos e fechados (%)

durante o dia foram confeccionadas três lâminas da epiderme abaxial da folha, para cada genótipo e tratamento, utilizando o método de moldes que utiliza o esmalte incolor para obter o molde da epiderme da folha. Na condição controle e DH (último dia antes da reidratação) foram coletados 1 cm² da epiderme foliar de cada cultivar, estressado e não estressado. A coleta foi realizada no último dia de estresse (16% da capacidade de campo), em quatro horários distintos: 9 h, 12 h, 15 h e 18 h. Com o uso de esmalte incolor e fita adesiva, as áreas da epiderme coletadas, foram transferidas para lâminas e analisadas em microscópio óptico em aumento de 400x. Foi realizada a contagem de estômatos e o percentual de estômatos abertos e fechados nos diferentes horários de coleta.

Adicionalmente, no último dia de estresse foram realizadas coletas de plantas a fim de realizar análise do acúmulo de prolina em folhas e raízes e pesagem da massa fresca de folhas (MFF), massa fresca das hastes (MFH), e massa fresca de legumes (MFL). Posteriormente o material vegetal permaneceu em estufa a 50 °C com circulação de ar, até obtenção de massa seca constante: massa seca da folha (MSF), massa seca das hastes (MSH) e massa seca de legumes (MSL). Foram coletadas uma amostra por bloco de cada cultivar para cada condição, controle e DH (R7).

A determinação dos níveis de prolina foram realizadas segundo metodologia descrita por Bates et al. (1973). Amostras de folhas e raízes previamente congeladas (0,5 g) foram maceradas em 10 mL de ácido sulfosalicílico e centrifugadas a 3000 g. Alíquotas de 2 mL do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio e adicionado 2 mL de nihidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial agitando-os rapidamente. Posteriormente, os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100 °C por 1 h, seguido de resfriamento em banho de gelo. Posteriormente, foram acrescentados a cada tubo, 4 ml de tolueno, agitando-se para mistura dos líquidos. Após repouso para separação das fases, a fração tolueno foi retirada e sua absorbância medida a 520 nm, em espectrofotômetro. Os tubos de ensaio com solução para análise de prolina em espectrofotômetro podem ser observados no Apêndice H, aqueles com coloração mais clara são de genótipos do controle e aqueles com coloração mais escura, que apresentaram maior acúmulo de prolina são os genótipos que foram submetidos à DH (R7). O cálculo da

concentração (em ug/mL) de prolina foi realizado com base na curva padrão de prolina.

Ao final do ciclo das cultivares, foram coletados os legumes de três plantas por bloco a fim de avaliar os componentes rendimento: número de legumes por planta (NLP), número de grãos por planta (NGP), massa grãos por planta (MGP), massa de cem grãos (MCG), número de grãos por legume (NGL), número de lóculos por legume (NLL) e número de grãos falhos (GF). O rendimento em Kg ha⁻¹ foi estimado para uma população de 200.000 plantas por hectare, utilizando-se o NLP, NGL e a MCG.

O índice de intensidade do estresse hídrico (IIE) foi calculado através da produtividade média de todos os genótipos sob DH (Xd.h.) e a produtividade média de todos os genótipos em condições irrigadas (Xi), com a seguinte fórmula (CIAT, 2012 apud GONÇALVES, 2013):

$$IIE = 1 - (Xd.h./Xi)$$

Adicionalmente, foi calculado o índice de suscetibilidade ao estresse (ISS), sendo: Y_{dh} a produtividade de grãos de um determinado genótipo sob deficiência hídrica; Y_{ne} a produtividade de um determinado genótipo em condições não estressantes; IIE é o índice de intensidade de estresse hídrico (FISHER & MAURER, 1978 apud GONÇALVES, 2013).

$$ISS = \frac{\left(1 - \frac{Y_{dh}}{Y_{ne}}\right)}{IIE}$$

O índice de intensidade do estresse hídrico (IIE) chegou a 0,64.

Após a tabulação dos dados, foi realizado o teste de homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett, e normalidade dos dados pelo teste de Lilliefors.

Confirmados os pressupostos, os dados para os caracteres, massa fresca e seca das folhas (MFF e MSF), hastes (MFH e MSH), e legumes (MFL e

MSL), número de grãos falhos (NGF), número de legumes por planta (NLP), massa de cem grãos (MCG), rendimento de grãos, concentração de prolina em raízes e folhas foram submetidos a análise de Variância (teste F). Nos casos onde foi verificado interação significativa entre os fatores, foi realizada análise de comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de significância.

Para os dados de trocas gasosas, TAsCO₂, CE, EUA, TR e CiCO₂, que foram analisados por quatro dias incluindo aquele em que a capacidade campo atingiu 16%, foi procedida a análise de variância, considerando os efeitos de cultivares e tempo (quatro dias) como efeitos fixos e a interação. O efeito do estresse foi mensurado mediante análise de regressão polinomial, testada até o grau cúbico.

Para o percentual de estômatos fechados ao longo do dia, quando a capacidade de campo estava em 16%, foi procedida a análise de variância, considerando os efeitos de cultivares e tempo (horários) como efeitos fixos e a sua interação. o efeito do estresse foi mensurado mediante análise de regressão polinomial, testada até o grau cúbico.

Foram realizadas ainda, análises de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados na condição controle, bem como na condição de DH, para verificar as relações existentes entre eles, e a possibilidade de seleção indireta de algum caractere.

Adicionalmente, no programa Genes (Cruz, 2008), foi realizada análise multivariada com intuito de verificar a contribuição relativa dos caracteres para estudo da divergência genética na condição controle e de DH. Considerando a análise baseada na distância (D^2) de Mahalanobis, em que a importância relativa dos caracteres foi estimada por meio da participação dos componentes relativos a cada caractere (fisiológicas e agrônômicas totalizando 25 caracteres) no total da dissimilaridade observada utilizando o critério de Singh (1981).

Visando identificar os genótipos com desempenho similar na condição controle e na DH de forma separada, foi realizada a análise de agrupamento. Foi considerado no processo de agrupamento, as estimativas dos valores genotípicos de cada genótipo na condição controle e DH, obtidas para cada um dos 25 caracteres em estudo. A análise de agrupamento foi realizada com o grupo original

de caracteres considerando-se a técnica de otimização proposta por Tocher, utilizando a matriz obtida pela análise da distância generalizada de Mahalanobis.

4.2 Análises Moleculares

As análises moleculares foram efetuadas com sete pares de *primers* desenhados em sequências de genes e promotores gênicos associados com a tolerância à seca (Tabela 2). A seleção dos genes foi realizada por meio do alinhamento local utilizando a ferramenta tBlastn (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<http://www.sciencedirect.com/science>) das sequências de aminoácidos de genes testados para a tolerância à seca em grandes culturas alinhadas com o genoma do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (SCHMUTZ et al., 2014) no Banco de Dados Phytozome (<http://www.phytozome.net/search.php>) (GOODSTEIN et al., 2012) conforme descrito por Pagnoncelli et al. (2015).

Após identificação dos genes homólogos, os iniciadores foram desenhados no programa Primer3Plus (<http://www.bioinformatics.nl/primer3plus>) (Untergasser et al., 2007) e foram sintetizados artificialmente, utilizando-se como parâmetros o tamanho de 20 pares de bases, o tamanho do *amplicon* de 500 pares de bases (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plusAbout.cgi>), e a temperatura de melting a 58 °C e o conteúdo GC variando entre 45 a 55%.

A extração e isolamento do DNA genômico foram realizados a partir de folhas jovens, de acordo com a metodologia de Doyle & Doyle (1987), com modificações de Lodhi et al. (1994); Lefort e Douglas (1999).

O material biológico consistiu de folhas jovens (primeiro par de folhas simples) previamente coletadas e congeladas a -80°C de cada um dos 10 genótipos. O DNA foi extraído individualmente de cada planta a partir de 1 g de tecido vegetal. O precipitado de DNA foi ressuspenso em tampão Tris-EDTA, pH 8,0. A qualidade/integridade do DNA foi analisada em gel de agarose 0,8% com corante fluorescente (Kasvi), visualizado em transiluminador sob luz ultravioleta e as imagens foram capturadas com equipamento de fotodocumentação. A concentração do DNA foi estimada espectrofotometricamente por leitura de absorbância a 260nm (SAMBROOK et al., 1989).

Após a confirmação da qualidade do DNA e quantificação, procedeu-se a PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Para a reação da PCR foram utilizados os seguintes componentes: Tampão da Amostra (1X) – 1,25 μL ; MgCl 50mM (1,5 mM) – 0,38 μL ; Mistura dNTPs 10mM (0,2 mM cada) – 0,25 μL ; Mistura de *Primers* (*Forward e Reverse*) (0,5 mM) 0,13 μL cada; Taq DNA Polimerase (2,5 U) - 0,13 μL ; DNA molde (q.s.p concentração de 100 ng/ μL) - 2,5 μL ; Água ultrapura q.s.p - 12,5 μL .

Após preparadas as soluções para amplificação do DNA, todas foram submetidas a reação de PCR no termociclador (Figura 3A), que foi programado com as seguintes etapas:

- 1ª etapa: desnaturação inicial: 95 °C por 5 minutos – 1 ciclo;
- 2ª etapa: desnaturação: 95 °C por 1 minuto e anelamento dos iniciadores a 58°C por 1 minuto; extensão: 72 °C por 1 minuto – 35 ciclos;
- 3ª etapa: extensão final: 72 °C por 10 minutos – 1 ciclo;

Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 2% a 80 V durante 4 h (Figura 3B). As bandas formadas migração do DNA no gel foram comparadas ao marcador de peso molecular de 100 pb DNA Ladder.

Os produtos das amplificações (bandas) foram estimados manualmente por comparação com o marcador de peso molecular (100 bp DNA Ladder). A partir desta análise, os pares de iniciadores foram classificados em presença (1) e ausência (0) de bandas nos genótipos, gerando uma matriz de dados binários.

Tabela 2 – Denominação dos *primers*, seu *locus*, função, sequência de aminoácidos e tamanho do fragmento amplificado. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Primer	Locus	Função do Gene (Proteína Codificada)	Sequência de aminoácidos		Tamanho do fragmento amplificado (pb ³)
			Forward	Reverse	
1	Promo ¹ _Phvul.001G187100	<i>AP2 domain – transcription factor</i>	AAAAGCCCTTCAACCCCTAA	GCTGCTGCATTGGTATCAGA	392
2	Gen ² _Phvul.001G187100	<i>AP2 domain – transcription factor</i>	TAGCGGAAAATGGGTTTCTG	GGAAGAGAAGAGGCGGAGTT	168
3	Promo_Phvul.005G126300	<i>AP2 domain – transcription factor</i>	CGGATCATGTCTCAAGCAA	GAAAAAGCACGAGGAAAACG	517
4	Gen_Phvul.005G126300	<i>AP2 domain – transcription factor</i>	CACCATTTCAAGCAGAAGCA	CAACAGCCTCCAGTGAACAA	426
5	Gen_Phvul.002G275000	<i>No apical meristem (NAM) protein – transcription factor</i>	GCTCATGGCCGTTGTATTTT	TTGTCACTGCTTTCGTCACC	326
6	Gen_Phvul.009G070800	<i>Not family named</i>	TTATGGCACGTTGGGTTACA	AATCCCGATTCCCTCCATTTT	555
7	Gen_Phvul.001G026700	<i>Not family named</i>	AAAGGGTCGGCTGAAAAGAT	TTTTGAGGGGAATTTGTTGG	149

1 Promotor do gene do *locus*; 2 Gene do *locus*; 3 Pares de bases.

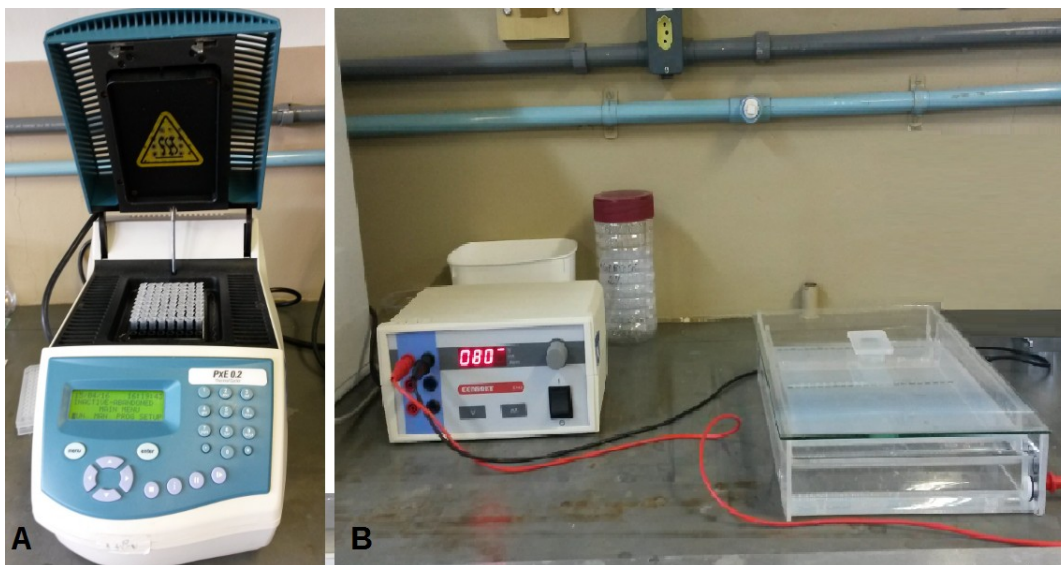


Figura 3 – (A) Termociclador para PCR; (B) produto da PCR em gel de agarose (2%). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

A similaridade entre os genótipos foi analisada utilizando o *software* NTSYS-PC (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System for personal computers, Version 2.1, Applied Biostatistics, Inc.*) (ROHLF, 2000). Foi utilizado o coeficiente de Dice (DICE, 1945).

A matriz de similaridade (Sg) estimada foi transformada em uma matriz de dissimilaridade (Dg) a partir do complemento da similaridade estimada ($Dg = 1 - Sg$) e com base na matriz de dissimilaridade gerada foi construído um dendrograma por meio do método de agrupamento grupamento UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic means*). Para a verificação do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (r), conforme SOKAL e ROHLF (1962).

Para estimar o grau de correlação da matriz de dissimilaridade obtida foi realizado teste de Mantel com 1000 permutas (MANTEL, 1967), utilizando NTSYS-PC (ROHLF, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises de intensidade do estresse aplicado e índice de suscetibilidade ao estresse (ISS)

Treze dias após a supressão da irrigação o solo dos vasos apresentou 16% da capacidade campo, o solo que foi saturado perdeu 84% da massa de água; as plantas estavam visualmente bastante estressadas pela DH (Figura 4) e ainda assim o Ψ_w do xilema manteve-se alto (Tabela 3).



Figura 4 – Genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados em casa de vegetação da UTFPR, Pato Branco – PR, estressados pela DH doze dias após o corte da irrigação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

A capacidade de um genótipo de feijoeiro passar por uma situação adversa, como a DH, e ainda apresentar maior rendimento de grãos, quando comparados a outros na mesma condição, sinaliza maior tolerância deste ao estresse (PIMENTEL e PEREZ, 2000).

O índice de suscetibilidade à seca (ISS) variou de 0,65 a 1,10 (Figura 5), considerando que os mais baixos valores para este índice indicam os genótipos menos suscetíveis à seca, é possível inferir quanto à seleção de genótipos com

potencial para tolerância à seca (GONÇALVES, 2013).

Tabela 3 – Potencial hídrico (ψ_w) no xilema de 10 genótipos de feijão analisados com a Bomba de Sholander, submetidos a DH no estádio R7, com o solo em 16% da capacidade de campo. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	ψ_w no xilema	
	Controle	DH (R7)
ANFC9	-0,15	-0,5
BRSMG Realce	-0,25	-0,4
IPR Uirapuru	-0,1	-0,45
IPR Tuiuiu	-0,05	-0,3
ANFP110	-0,1	-0,5
IPR Tangará	-0,2	-0,35
IAC Imperador	-0,05	-0,35
IAC Milênio	-0,3	-0,25
BRS Esplendor	-0,2	-0,3
IPR Siriri	-0,12	-0,25
Média	-0,15	-0,36

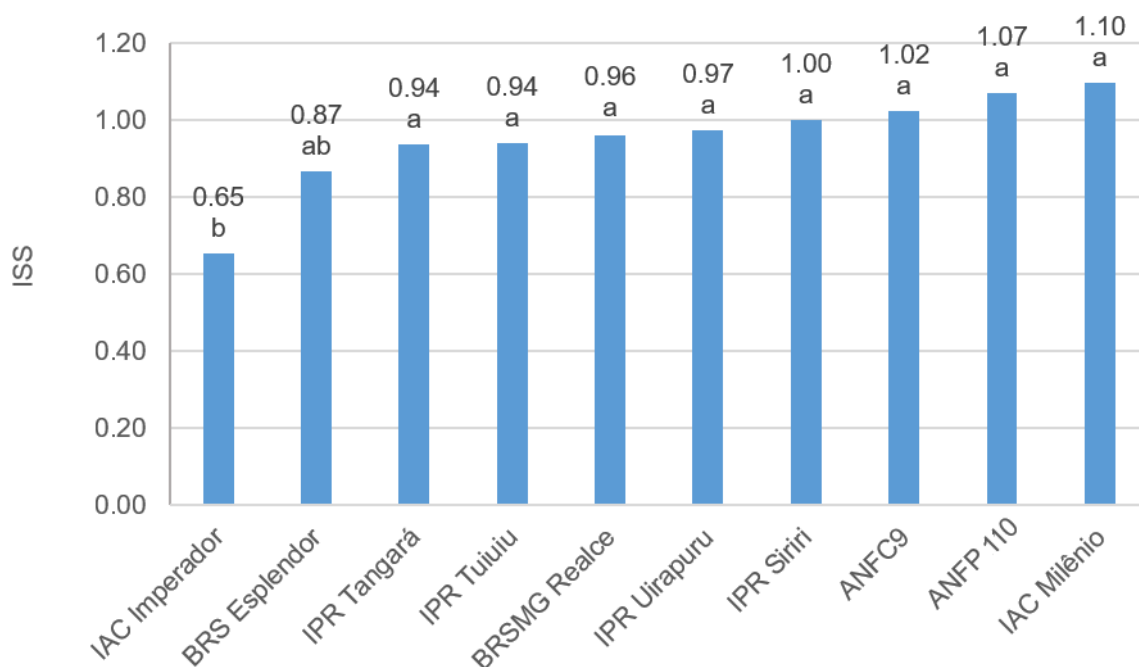


Figura 5 – Índice de suscetibilidade à seca de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à DH no estádio R7. ISS (Índice de Suscetibilidade à Seca). Médias indicadas pelas mesmas letras não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Desta forma, pode-se afirmar que o genótipo que apresentou menor

suscetibilidade a seca entre os analisados foi a cultivar IAC Imperador que diferiu significativamente da maioria dos genótipos com exceção de BRS Esplendor, o qual também apresentou comportamento similar aos demais oito genótipos. Gonçalves, (2013), avaliou cruzamentos de feijão com relação a tolerância à DH e, em seu experimento, os ISS variaram entre 0,85 a 1,23. Esses índices foram considerados elevados e não apresentaram diferença significativa pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), no entanto, ele afirmou que para a seleção de um genótipo promissor, aquele que tiver menor ISS apresenta um indicativo de maior tolerância à seca.

5.2 Análises de parâmetros fisiológicos e agronômicos

A análise de variância para os componentes de rendimento dos dez genótipos avaliados registra que houve diferença significativa ($p < 0,01$) considerando as condições impostas (controle e DH), (Tabela 4), o genótipo e a interação entre os dois fatores, com exceção para a interação entre condição x genótipo para número de lóculos por legume (NLL).

Tabela 4 – Resumo da análise de variância para os componentes de rendimento de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos a duas condições hídricas, controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco – PR, 2016.

Fonte de Variação	GL	QM							
		NLP	NGP	MGP	NLL	NGL	GF	MCG	Rend Kg ha ⁻¹
Condição	1	774,00 **	27285,34 **	1074,37 **	16,80 **	87,81 **	27,28 **	269,68 **	6,81E007 **
Genótipo	9	13,24 **	561,16 **	8,17 **	3,75 **	6,51 **	1,71 **	394,05 **	326714,4 **
Condição X Genótipo	9	14,41 **	265,61 **	8,07 **	0,42 ^{ns}	1,91 **	1,99 **	50,05 **	322918,9 **
Erro	217	2,84	44,21	2,18	0,28	0,56	0,38	14,49	87330,51
CV (%)		27	27	26	10	19	42	15	26

** e ^{ns}, significativo a 1% de probabilidade de erro e não significativo respectivamente; GL: Graus de Liberdade; QM: quadrado médio; NLP: número de legumes por planta; NGP: número de grãos por planta; MGP: massa de grãos por planta; NLL: número de lóculos por legume; NGL: número de grãos por legume; GF: grãos falhos; MCG: massa de cem grãos; Rend (Kg ha⁻¹): rendimento de grãos em quilogramas por hectare; CV(%): Coeficiente de Variação.

A condição de estresse afetou o rendimento de grãos de todos os genótipos. A Figura 6 mostra o desempenho dos genótipos avaliados, em relação ao rendimento de grãos (Kg ha⁻¹) sem estresse e a redução no rendimento (%), os promissores são aqueles que apresentam maior potencial de rendimento sem

estresse e o menor percentual de redução de rendimento na condição de DH; entre os genótipos avaliados, o IAC Imperador obteve o melhor desempenho, comportamento também observado em relação ao ISS. O ANFP110, seguido pelo IAC Milênio, mostraram alto potencial de rendimento, mas não apresentaram bom desempenho em condições de estresse. Eles apresentaram o maior percentual de redução de rendimento em relação ao seu potencial com 72,9% e 72,1% respectivamente, seguidos pela ANFC9 com 69,3%, IPR Uirapuru com 68,3%, IPR Siriri com 68,1%, IPR Tangará com 63,4%, IPR Tuiuiu com 61,6%, BRS Esplendor com 60,6%, BRSMG Realce com 58,5% e IAC Imperador com 43,4%.

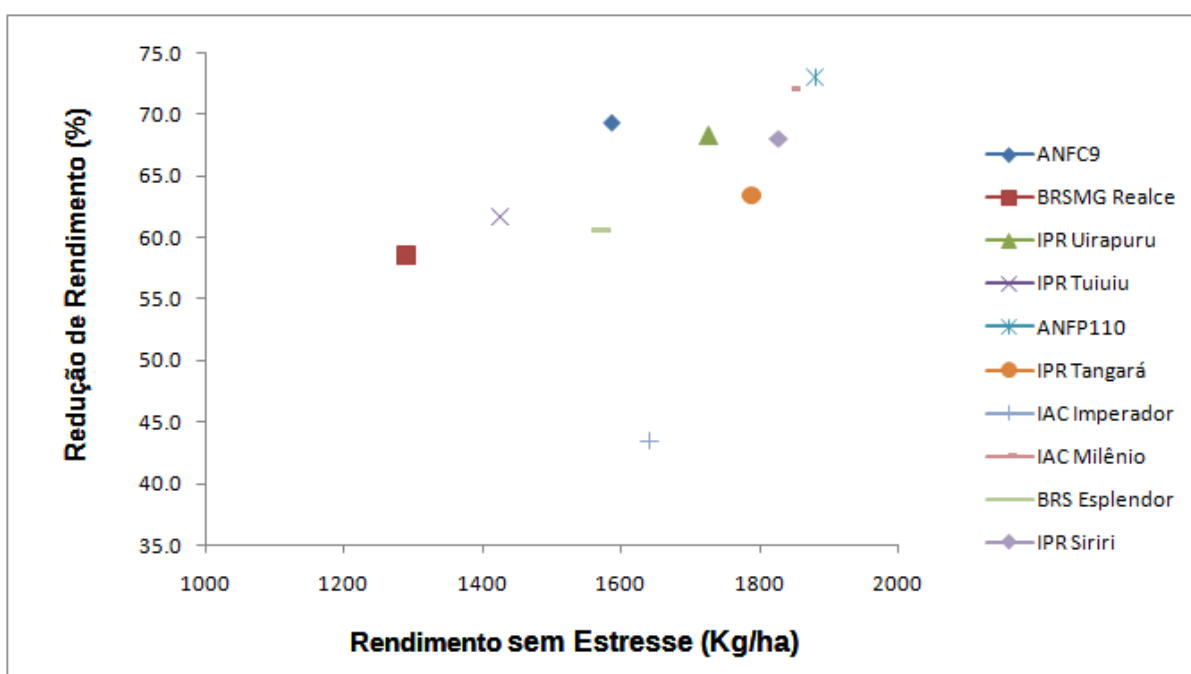


Figura 6 – Desempenho de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliados, em relação ao rendimento de grãos (Kg ha^{-1}) sem estresse e a redução no rendimento (%) causada pela DH aplicada no estágio R7. Capacidade de campo do solo no último dia de estresse: 16%. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Neto e Cirino (2012) também observaram que a condição de DH no estágio de florescimento e início de formação de vagens, aplicados em dez genótipos de feijoeiro, ocasionou redução na maioria dos componentes de rendimento. O rendimento em (Kg ha^{-1}) foi afetado em até 68,21% no genótipo LP08-71, o IPR Uirapuru teve seu potencial reduzido em 33,88% e o BRS Esplendor em 21,69%.

A comparação entre médias dos componentes de rendimento dos dez

genótipos de feijão avaliados em resposta ao estresse hídrico estão listadas nas Tabelas 5, 6, 7 e 8. O NLP daqueles que receberam água durante todo o ciclo foi significativamente superior em todos, com exceção do BRSMG Realce em que a condição de DH não diferenciou do controle. Isto deve-se, possivelmente, ao ciclo de 77 dias e ao hábito de crescimento determinado tipo I, pois quando o estresse ocorreu ele estava em estágio R7, e provavelmente nessa fase, esse genótipo já havia determinado o NLP. Os três genótipos que apresentaram menor percentual de redução de NLP, de plantas estressadas em relação ao controle, foram BRSMG Realce com 14,24%, IPR Tuiuiu com 28,44% e IAC Imperador com 39,11% (Tabela 5).

Nos caracteres avaliados, NGP (Tabela 5) e MGP (Tabela 6) todos os genótipos foram superiores na condição de sempre irrigado (controle), quando comparados aos que foram submetidos à DH no estágio de desenvolvimento R7. O ANFP 110 apresentou o maior percentual de redução do NGP (72,18%) em relação aos outros e os genótipos BRSMG Realce, IAC Imperador e IPR Tuiuiu tiveram o menor percentual de redução para esta característica com 44,44%, 48,01% e 58,56% respectivamente.

Tabela 5 – Média dos componentes de rendimento número de legumes por planta (NLP) e número de grãos por planta (NGP) 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	NLP			NGP		
	Controle	DH (R7)	%Redução	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	6,58 Acd	3,5 Ba	46,81	29,75 Ac	10,00 Ba	66,39
BRSMG Realce	5,83 Ad	5,0 Aa	14,24	18,00 Ad	10,00 Ba	44,44
IPR Uirapuru	7,5 Aabcd	3,75 Ba	50,00	37,58 Aabc	13,00 Ba	65,41
IPR Tuiuiu	6,75 Abcd	4,83 Ba	28,44	32,17 Abc	13,33 Ba	58,56
ANFP110	9,42 Aa	4,5 Ba	52,23	43,75 Aa	12,17 Ba	72,18
IPR Tangará	6,83 Abcd	3,75 Ba	45,10	32,33 Abc	12,33 Ba	61,86
IAC Imperador	8,08 Aabc	4,92 Ba	39,11	31,58 Abc	16,42 Ba	48,01
IAC Milênio	9,41 Aa	3,58 Ba	61,96	33,75 Abc	10,83 Ba	67,91
BRS Esplendor	8,92 Aab	5,08 Ba	43,05	45,5 Aa	17,50 Ba	61,54
IPR Siriri	9,58 Aa	4,08 Ba	57,41	39,83 Aab	15,41 Ba	61,31

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Na avaliação da MGP, os genótipos IAC Imperador, seguido pelo IPR

Tangará, BRS Esplendor, IPR Siriri, IPR Tuiuiu e IPR Uirapuru foram superiores aos demais em condição de seca e não diferenciaram entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro, neste caso, o IAC Imperador destacou-se por apresentar o menor percentual de redução da MG (43,36%).

Tabela 6 – Média dos componentes de rendimento massa de grãos por planta (MGP) e massa de cem grãos (MCG) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MGP (g)					MCG (g)				
	Controle		DH (R7)		%Redução	Controle		DH (R7)		%Redução
ANFC9	7,94	Aabc	2,44	Bb	69,27	26,97	Abc	24,38	Aab	9,60
BRSMG Realce	6,46	Ac	2,68	Bb	58,51	35,98	Aa	27,26	Ba	24,24
IPR Uirapuru	8,64	Aab	2,74	Bab	68,29	23,26	Abcd	21,34	Abc	8,25
IPR Tuiuiu	7,13	Abc	2,74	Bab	61,57	22,24	Acde	21,28	Abc	4,32
ANFP110	9,41	Aa	2,55	Bb	72,90	21,86	Ade	20,79	Abc	4,89
IPR Tangará	8,95	Aab	3,28	Bab	63,35	27,78	Ab	26,94	Aa	3,02
IAC Imperador	8,21	Aabc	4,65	Ba	43,36	26,41	Abcd	28,39	Aa	-7,50
IAC Milênio	9,24	Aa	2,58	Bb	72,08	27,71	Ab	23,81	Bab	14,07
BRS Esplendor	7,86	Aabc	3,10	Bab	60,56	17,56	Ae	17,78	Ac	-1,25
IPR Siriri	9,14	Aa	2,92	Bab	68,05	23,19	Abcd	19,78	Bbc	14,70

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Tabela 7 – Média dos componentes de rendimento número de grãos por legume (NGL) e número de lóculos por legume (NLL) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	NGL					NLL				
	Controle		DH (R7)		%Redução	Controle		DH (R7)		%Redução
ANFC9	4,53	Aabcd	2,92	Babc	35,54	5,94	Aa	5,42	Bab	8,75
BRSMG Realce	3,17	Ae	2,07	Bc	34,70	4,40	Ac	4,23	Ad	3,86
IPR Uirapuru	4,97	Aab	3,69	Bab	25,75	5,76	Aab	5,0	Babc	13,19
IPR Tuiuiu	4,78	Aabc	2,89	Babc	39,54	5,67	Aab	4,68	Bcd	17,46
ANFP110	4,64	Aabc	2,77	Bbc	40,30	5,38	Aab	4,92	Babcd	8,55
IPR Tangará	4,78	Aabc	3,33	Bab	30,33	5,61	Aab	5,46	Aa	2,67
IAC Imperador	3,99	Acde	3,48	Aab	12,78	5,57	Aab	4,79	Babcd	14,00
IAC Milênio	3,62	Ade	3,13	Aab	13,54	5,17	Ab	4,76	Abcd	7,93
BRS Esplendor	5,23	Aa	3,72	Bab	28,87	5,86	Aab	5,20	Babc	11,26
IPR Siriri	4,22	Abcd	3,82	Aa	9,48	5,71	Aab	5,28	Aabc	7,53

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Três genótipos, BRSMG Realce, IAC Milênio e IPR Siriri, tiveram a MCG afetada pela DH (Tabela 6), sendo este, um dos fatores que influenciou para a redução do rendimento. Os outros não apresentaram diferença estatística em função das condições impostas (controle e DH). O BRSMG Realce destacou-se com maior percentual de redução da MCG de 24,24%, enquanto que o IAC Imperador e BRS Esplendor tiveram a MCG superior na condição de DH em relação ao controle. Isso mostra maior capacidade destes genótipos de realocarem fotoassimilados para os grãos remanescentes.

Os genótipos IPR Siriri, IAC Imperador e IAC Milênio não apresentaram redução do NGL (Tabela 7) em condições de estresse quando comparadas ao controle e o BRSMG Realce obteve o pior desempenho, em condições de seca, para o NGL, não diferenciando-se, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro, da ANFC9, ANFP 110 e IPR Tuiuiu.

Aqueles que apresentaram o menor rendimento na condição de DH foram ANFC9, ANFP110, IAC Milênio e BRSMG Realce e o que se destacou com maior rendimento foi o IAC Imperador (Tabela 8). Este manteve o NGV e a MCG em condições de DH, e não aumentou a quantidade de GF em relação ao controle.

Tabela 8 – Média dos componentes de rendimento grãos falhos (GF) e Rendimento (Kg ha⁻¹) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	GF					Rend Kg ha ⁻¹				
	Controle		DH (R7)		%Aumento	Controle		DH (R7)		%Redução
ANFC9	1,40	Aabc	2,50	Ba	44,00	1587	Aabc	487	Bb	69,31
BRSMG Realce	1,24	Aabc	2,15	Bab	42,33	1291	Ac	536	Bb	58,48
IPR Uirapuru	0,79	Aabc	1,36	Bbc	41,91	1727	Aab	548	Bab	68,27
IPR Tuiuiu	0,90	Aabc	1,79	Babc	49,72	1426	Abc	547	Bab	61,64
ANFP110	0,75	Abc	2,15	Bab	65,12	1881	Aa	509	Bb	72,94
IPR Tangará	0,83	Aabc	2,13	Bab	61,03	1789	Aab	655	Bab	63,39
IAC Imperador	1,58	Aa	1,31	Ac	-20,61	1642	Aabc	929	Ba	43,42
IAC Milênio	1,55	Aa	1,63	Abc	4,91	1847	Aa	516	Bb	72,06
BRS Esplendor	0,64	Ac	1,49	Bbc	57,05	1572	Aabc	620	Bab	60,56
IPR Siriri	1,49	Aab	1,46	Abc	-2,05	1828	Aa	584	Bab	68,05

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

O rendimento de grãos (Kg ha⁻¹) é a característica economicamente

mais importante e a que mais reflete os efeitos da deficiência hídrica. Aguiar et al. (2008), observaram entre as cultivares do grupo carioca, que a variedade IAPAR 81, seguida pela linhagem LP99-79 destacaram-se por apresentar o menor índice de redução de rendimento 31% e 36%, respectivamente, entre 10 genótipos avaliados. A linhagem LP99-79 foi registrada no SNRC/MAPA com a denominação de IPR Siriri.

Além do genótipo IAC Imperador, aqueles que não apresentaram diferença entre as condições impostas para GF foram IPR Siriri e IAC Milênio, ou seja, a condição de seca não influenciou nesta característica.

O rendimento de grãos é dependente da produção de fotoassimilados gerados a partir da assimilação de CO_2 e podem ser oriundos de três fontes principais: da fotossíntese de folhas ativas, da fotossíntese das demais partes verdes e da remobilização de fotoassimilados depositados em outros órgãos da planta (Floss, 2011).

Os caracteres eficiência no uso da água (EUA), taxa de assimilação de CO_2 (TAsCO_2), condutância estomática (CE), concentração interna de CO_2 (CiCO_2) e transpiração (TR) apresentaram significância ($p < 0,05$) para todas as variáveis analisadas e não houve significância para a interação condição hídrica e tempo na variável EUA e para a condição na CiCO_2 conforme resumo da análise de variância (Tabela 9).

A temperatura e a umidade relativa (UR) do ar foi distinta nos quatro dias de avaliação: 29,2 °C com 81% de UR (1º dia); 23,7 °C com 76% de UR (2º dia – nublado e chuvoso); 27,1 °C com 65% de UR (3º dia) e, por fim, 28,1 °C com 77% de UR (4º dia). As avaliações iniciaram nove dias após a supressão da irrigação e o percentual de água no solo em relação a capacidade de campo foi reduzindo diariamente, no primeiro dia estava em 43%; no segundo, 33%; no terceiro 25% e no quarto e último dia de avaliação, estava em 16%. Possivelmente a oscilação da radiação solar incidente e da demanda atmosférica por água, nos quatro dias de análise, com ocorrência de chuvas no segundo dia, influenciou na resposta dos genótipos.

A análise de regressão polinomial (Tabela 10), para o fator CE, apresentou queda em função da DH para todos os genótipos avaliados. Corroborando com os resultados, Guimarães et al. (2014), também verificaram queda da CE em três genótipos de feijoeiro comum em função da DH, neste caso foi

observado que o genótipo com sistema radicular mais agressivo e profundo teve maior condutância estomática em todo o período de avaliação.

Tabela 9 – Resumo da análise de variância para as trocas gasosas de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Fontes de Variação	GL	QM				
		EUA	TAsCO ₂	CE	CiCO ₂	TR
Condição	1	0,019 **	3150,28 **	4,68 **	81,95 ^{ns}	1102,74 **
Tempo	3	0,049 **	6,3739 **	0,38 **	30973,38 **	5,72 **
Genótipo	9	0,006 **	59,48 **	0,57 **	6404,902 **	29,09 **
Cond.Gen	9	0,018 **	42,61 **	0,58 **	3445,46 **	25,47 **
Tempo.Gen	27	0,007 **	19,22 **	0,45 **	4935,50 **	2,50 **
Cond.Tempo	3	0,002 ^{ns}	36,94 **	0,47 **	15345,61 **	3,31 *
Cond.Tempo.Gen	27	0,006 **	11,6 **	0,45 **	37,48,435 **	4,04 **
Erro	237	0,001	1,78	0,008	1096,54	1,001
CV (%)		18,9	18,7	46,7	11,5	26,6

** , * e ns: significativo a 1%, a 5% de probabilidade de erro e não significativo respectivamente; QM: Quadrado Médio; GL: Graus de Liberdade; EUA: eficiência do uso da água; TAsCO₂: taxa de assimilação de CO₂; CE: condutância estomática; CiCO₂: concentração interna da CO₂; TR: transpiração; CV(%): Coeficiente de Variação.

Paiva et al. (2005) verificaram, em experimento com feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Carioca 80) sob quatro regimes de irrigação, que a condutância estomática sempre diminuiu em resposta a baixos valores de potencial hídrico no solo e a altos valores de déficit de potencial de vapor.

A ocorrência de DH provoca diminuição da fotossíntese principalmente pelo fato dos estômatos se fecharem e a entrada de gás carbônico ficar impedida (FLOSS, 2011), no entanto esse movimento é essencial para diminuir a transpiração e perda de água pela planta. A abertura e fechamento dos estômatos são estimulados por fatores ambientais como a condição hídrica do solo, do ar e temperatura, sendo que o controle desse movimento é dependente de cada genótipo (BRAY, 2001) e ocorre devido a absorção osmótica de água pelas células-guardas. Em muitas plantas, as células-guarda são circundadas por células diferenciadas da epiderme da folha, as células subsidiárias, e, adicionando-se a elas o poro estomático, formam o complexo ou aparelho estomático. Os principais processos responsáveis por regular as propriedades osmóticas das células-guardas envolvem a fotobiologia, as relações iônicas das células e mecanismos hormonais

(KERBAUY, 2012).

Tabela 10 – Análise de regressão polinomial para condutância estomática (CE) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	Condutância Estomática (CE) [mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹]			
	Controle	R ²	Estresse (DH em R7)	R ²
ANFC9	0,38 - 0,05x *	83	0,05	
BRSMG Realce	0,097 + 0,067x *	91	0,06	
IPR Uirapuru	0,19 - 0,11x + 0,04x ² ***	71	0,07	
IPR Tuiuiu	0,47 - 0,04x *	88	0,06 + 0,21x - 0,07x ² *	75
ANFP110	2,40 - 0,9x *	64	0,05	
IPR Tangará	0,20 + 0,20x - 0,073x ² *	51	0,05 + 0,11x - 0,039x ² ***	86
IAC Imperador	0,33 - 0,026x ***	71	0,04 + 0,34x - 2,29x ² + 0,06x ³ ***	100
IAC Milênio	0,21 + 0,23x - 0,08x ² *	78	0,04 + 0,13x - 0,04x ² ***	49
BRS Esplendor	0,13 + 0,18x - 0,071x ² *	42	0,06	
IPR Siriri	0,09		0,06	

*, **, ***: significativo a 1%, a 5% e a 10% de probabilidade de erro.

A transpiração é considerada a perda de água das plantas para a atmosfera, na forma de vapor de água, e é o processo dominante nas relações da planta com a água. Durante o seu tempo de vida, a planta transporta uma quantidade imensa de água, na proporção de 200 a 1000 vezes a sua massa seca. A água perdida para a atmosfera, pela transpiração, é uma consequência inevitável da necessidade de assimilação do CO₂ atmosférico, pela fotossíntese, pois, quando a planta abre os estômatos para a aquisição do CO₂, ocorre a perda de água pela transpiração (PIMENTEL, 2004).

Em dias quentes e ensolarados, mesmo em um campo irrigado, a transpiração pode causar uma murcha transiente no meio do dia e, com o dessecamento do solo, ela pode causar a murcha permanente e morte por desidratação, se a umidade do solo não for repostada por chuvas ou por irrigação. No mundo, provavelmente mais plantas sofrem injúrias ou morrem por desidratação causada pela transpiração excessiva do que por qualquer outro fator (KRAMER & BOYER, 1995).

Na Tabela 11 encontram-se as análises de regressão polinomial para a transpiração (TR) e eficiência do uso da água (EUA) avaliados por quatro dias consecutivos.

Todos os genótipos reduziram a TR quando submetidos a DH, isso também está de acordo com os resultados da Tabela 8 que se refere a redução da CE. O controle estomático é um dos principais mecanismos de adaptação do feijoeiro à seca, Gonçalves (2013), verificou, em experimento com oito genótipos de feijoeiro comum sob DH, diferença significativa na CE entre os períodos da manhã e da tarde e percebeu que genótipos mais eficientes no mecanismo de abertura e fechamento estomático, e que possuem a capacidade de abrir os estômatos nas horas mais frescas do dia são mais promissores à produção.

Tabela 11 – Análise de regressão polinomial para transpiração (TR) e eficiência do uso da água (EUA) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Transpiração (TR) [mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹]				
Genótipo	Controle	R ²	Estresse (DH em R7)	R ²
ANFC9	7,10 - 0,704x **	80	1,36 + 4,59x - 4,32x ² + 0,94x ³ *	100
BRSMG Realce	3,60 + 0,37x **	58	2,95 - 0,65x *	87
IPR Uirapuru	6,41 - 3,53x + 1,11x ² *	70	2,55 - 0,54x *	98
IPR Tuiuiu	9,06 - 0,45x **	59	1,80 + 2,91x - 0,92x ² *	27
ANFP110	8,47 - 0,60x *	37	1,23	
IPR Tangará	5,22 + 0,59x *	78	2,03	
IAC Imperador	8,59 - 1,01x *	89	1,35 + 2,97x - 2,84x ² + 0,62x ³ ***	100
IAC Milênio	6,09 - 0,396x	86	1,9 - 1,67x + 2,19x ² - 0,53x ³ ***	100
BRS Esplendor	4,14 - 0,37x	63	1,97	
IPR Siriri	2,78		1,78	
Eficiência do Uso da Água (EUA) [(μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)(mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) ⁻¹]				
ANFC9	0,007 + 4,68x **	67	0,19 + 0,011x *	97
BRSMG Realce	0,18 + 0,073x *	92	0,23	
IPR Uirapuru	0,13 + 0,04x *	59	0,17 + 0,04x *	72
IPR Tuiuiu	0,181		0,19 + 0,05x *	81
ANFP110	0,13 + 0,03x *	84	0,03 - 0,36x + 0,032 x ² - 0,06x ³ *	100
IPR Tangará	0,10 + 0,03x *	84	0,12 + 0,04x *	79
IAC Imperador	0,14 + 0,04x *	84	0,23 + 0,21x - 0,27x ² + 0,06x ³ *	100
IAC Milênio	0,163		0,21	
BRS Esplendor	0,18 + 0,02x *	85	0,14 + 0,05x - 0,02x ² ***	85
IPR Siriri	0,20 + 0,29x - 0,25x ² + 0,05x ³ *	100	0,16	

*, **, ***: significativo a 1%, a 5% e a 10% de probabilidade de erro.

A manutenção do Ψ_w nas folhas do feijoeiro submetidas ao estresse hídrico devido a redução na transpiração e ajuste osmótico pode ser um indicativo

de um eficiente mecanismo protetor, esse comportamento foi observado por Coelho et al. (2013) em plantas de feijão [*Vigna unguiculata* L. (Walp.)] submetidas ao estresse salino.

Geralmente o movimento da água pela planta se resume, em sua maioria, na absorção radicular e transpiração (saída) pelos estômatos, que também controlam a entrada de CO_2 usado no processo de fotossíntese (BRAY, 2001).

A eficiência do uso da água (EUA) indica o consumo de água em relação ao rendimento obtido e reflete a eficiência da produção (CRUZ et al., 2012).

O genótipo IAC Imperador que obteve menor redução de rendimento em relação ao controle demonstrou aumento da EUA. De acordo com Sharkey et al., (2013), à medida que os estômatos fecham durante os estágios iniciais do déficit hídrico, a EUA pode aumentar, uma vez que o fechamento estomático inibe mais a transpiração do que diminui as concentrações de CO_2 e, a medida em que a DH torna-se mais severa, a fotossíntese vai sendo inibida e, com isso, diminui a EUA.

Com exceção dos genótipos ANFP 110, BRS Esplendor e IPR Siriri, os outros avaliados aumentaram a EUA sob DH durante os quatro dias de avaliação.

Na Tabela 12 estão representadas as regressões polinomiais para a taxa de assimilação de CO_2 ($T\text{AsCO}_2$) e para a concentração interna de CO_2 (CiCO_2) aferida em plantas de feijão do controle e estressadas pela DH. As equações mostram que alguns genótipos do controle apresentaram uma leve queda na $T\text{AsCO}_2$ que pode ter ocorrido em função do clima chuvoso que ocorreu no segundo dia de avaliação.

A DH reduziu a $T\text{AsCO}_2$ para todos os genótipos, comportamento semelhante foi verificado por Guimarães et al. (2014), em que a falta de água no solo reduziu a $T\text{AsCO}_2$ em três genótipos de feijoeiro avaliados.

A maioria dos genótipos apresentaram redução da CiCO_2 em função da DH com um ponto de máxima seguido de um declínio, com exceção do BRS Esplendor e do IPR Siriri, tal comportamento está relacionado à condutância estomática que diminui com a DH. A cultivar IAC Imperador teve comportamento muito semelhante no controle e na DH (R7).

Tabela 12 – Análise de regressão polinomial para taxa de assimilação de CO₂ (TAsCO₂) e para a concentração interna de CO₂ (CiCO₂) em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos quatro dias de estresse por DH aplicada no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Taxa de Assimilação de CO ₂ (TAsCO ₂) [$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]				
Genótipo	Controle	R ²	Estresse (DH em R7)	R ²
ANFC9	12,10 - 0,70x *	62	3,95 - 2,07x + 0,71x ² **	40
BRSMG Realce	7,34 + 0,52x ***	38	5,87 - 1,2x *	70
IPR Uirapuru	11,54 - 5,64x + 2,16x ² *	42	4,63 + 0,70x *	97
IPR Tuiuiu	13,58		4,44 + 5,44x - 1,69x ² *	54
ANFP110	12,63		3,61 - 4,09x + 4,51x ² - 1,11x ³ **	100
IPR Tangará	4,98 + 3,24x *	82	1,85 + 3,79x - 1,04x ² *	96
IAC Imperador	13,45 - 4,47x + 1,77x ² *	41	3,27 + 8,02x - 8,48x ² + 1,93x ³ *	100
IAC Milênio	10,33 - 2,54x + 0,73x ² **	78	3,85 + 2,24x - 0,66x ² **	56
BRS Esplendor	8,01 - 6,28x + 5,78x ² - 0,06x ³ *	100	3,53	
IPR Siriri	6,03 + 0,77x *	90	2,86 + 6,90x - 6,07x ² + 1,30x ³ **	100
Concentração Interna de CO ₂ (CiCO ₂) [$\mu\text{mol mol}^{-1}$]				
Genótipo	Controle	R ²	Estresse (DH em R7)	R ²
ANFC9	326,55 - 12,88x **	86	222,18 + 191,78x - 62,25x ² *	100
BRSMG Realce	275,89 + 289,30x - 263,38x ² + 57x ³ *	100	264 + 18,53x *	57
IPR Uirapuru	322,71 - 23,92x *	80	217,5 + 192,22x - 57,80x ² *	73
IPR Tuiuiu	269,90 + 56,91x - 16,71x ² **	62	259,36 + 179,09x - 15,74x ² **	42
ANFP110	341,37 - 18,35x *	83	272,5 + 198,36x - 173,14x ² + 36,39x ³ *	100
IPR Tangará	338,08 - 32,72x *	70	338,00 - 19,61x *	71
IAC Imperador	291,79 + 71,48x - 31,15x ² *	97	251,39 + 110,10x - 34,60x ² *	99
IAC Milênio	292,72	100	245,89 + 58,17x - 16,93x ² **	67
BRS Esplendor	263,02 + 134,01x - 138,60x ² + 30,56x ³ *	100	279,00 - 95,56x + 122,25x ² - 30,51x ³ *	100
IPR Siriri	249,21		262,56 - 114,22x + 141,58x ² - 30,34x ³ *	100

*, **, ***: significativo a 1%, a 5% e a 10% de probabilidade de erro.

A quantidade de estômatos fechados na epiderme da face adaxial das folhas dos dez genótipos de feijão, observados em quatro horários distintos no último dia de estresse (16% da capacidade de campo) apresentou significância ($p < 0,01$) para horários analisados, condições, genótipos e suas respectivas interações.

Nos horários de coleta as condições de temperatura e umidade relativa do ar (UR%) estavam em 21,6 °C e 97% UR às 9 h da manhã; 31,3 °C e 64% UR ao meio dia; 25,9 °C e 76% às 15 h e 27,6 °C com 18% UR às 18 h. Na Figura 7 pode ser observado o comportamento dos estômatos fechados, de dez genótipos da condição sempre irrigado (controle) e dez genótipos estressados pela DH (R7).

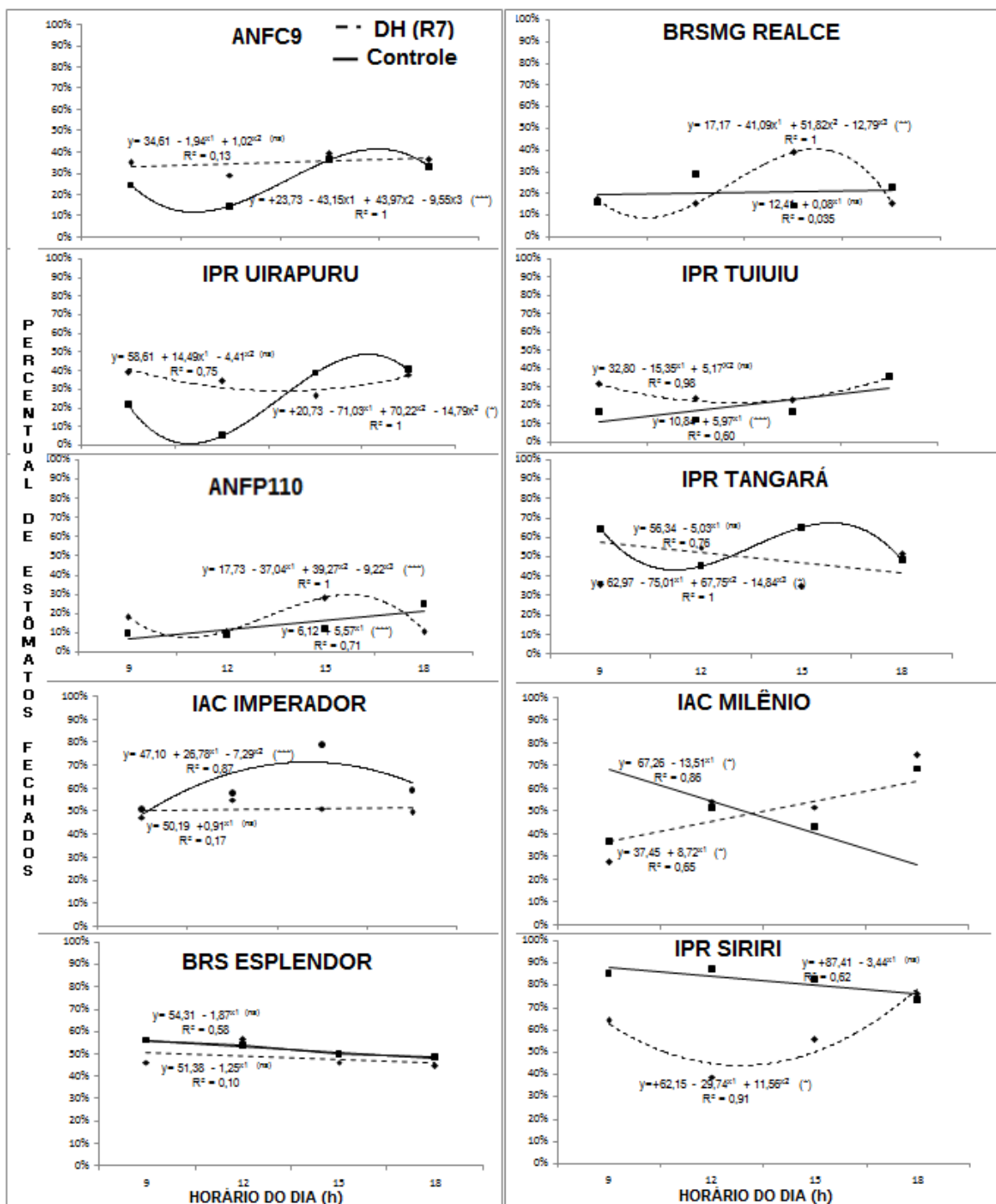


Figura 7 – Percentual de estômatos fechados de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à DH no estágio R7, analisados em quatro horários distintos no último dia estresse em que a capacidade de campo do solo atingiu 16%. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Na condição de DH, os genótipos ANFC9, BRSMG Realce, IPR Uirapuru, IPR Tuiuiu e ANFP110 apresentaram os estômatos fechados abaixo de 50% no período da manhã, ou seja, nos horários mais frescos. No controle, os

genótipos ANFC9, IPR Uirapuru, IPR Tuiuiu, ANFP110 e IPR Tangará aumentaram a quantidade de estômatos fechados entre 12 e 18 h. O genótipo IAC Imperador apresentou cerca de 50% dos estômatos fechados no período da manhã, aumentou esse percentual nos horários mais quentes e próximo às 18 h reduziu o percentual de estômatos fechados.

Os genótipos IAC Milênio e IPR Siriri, do controle, apresentaram a maior parte dos estômatos fechados na parte da manhã e no último horário de avaliação apresentaram menor percentual de estômatos fechados.

Em situação de DH, os genótipos que apresentaram aumento no percentual de estômatos fechados nos horários mais quentes, a partir das 12 h, foram ANFC9, BRSMG Realce, ANFP110 e IAC Milênio. Essas plantas foram muito responsivas às condições do ambiente, visto que os dois fatores, UR% e temperatura, tiveram grande influência no movimento estomático. Esse comportamento permitiu que as plantas estressadas abrissem os estômatos para absorção de CO₂ evitando perda de água pelo processo de transpiração nos horários mais quentes. Ao contrário, os genótipos IPR Uirapuru, IPR Tuiuiu e IPR Siriri reduziram o percentual de estômatos fechados às 12 h.

O genótipo IAC Imperador e BRS Esplendor mantiveram os estômatos fechados próximos a 50% em todos os horários na situação de DH, salientando que o IAC Imperador teve o menor percentual de redução de rendimento, sob DH, em relação ao seu potencial. A observação da atividade estomática é fundamental no entendimento dos processos fisiológicos, a qual é o principal meio de trocas gasosas entre a atmosfera e o interior da maquinaria fotossintética (SINGH e REDDY, 2011). Ela é responsável por quase todas as atividades dos fatores internos e externos da planta quando ligados a deficiência hídrica, por consistir em um fator integrativo ao efeito global do estresse hídrico sobre os parâmetros fisiológicos (MEDRANO et al., 2002).

Em locais com temperaturas mais elevadas a transpiração das plantas auxilia no resfriamento (PIMENTEL, 2004; OLIVEIRA et al., 2005), mas também promove o movimento apoplástico, em que a água utilizada pelas plantas para a fotossíntese é absorvida pelas raízes e transportada para a parte aérea junto com os nutrientes, através do xilema (FLOSS, 2011). A abertura e fechamento dos estômatos são estimuladas por fatores ambientais como a condição hídrica do solo, do ar e temperatura, sendo que o controle desse movimento é dependente de cada

genótipo.

Assim como o controle na abertura estomática, outros mecanismos podem ser verificados para diminuir a perda de água pela planta. A DH durante o estágio vegetativo reduz a área foliar e o crescimento da planta (GONÇALVES, 2013) e no estágio reprodutivo pode ser observada abscisão de folhas, flores e vagens. Dependendo da severidade do estresse, antes dos processos de abscisão, a planta passa por um mecanismo de transferência de nutrientes de órgãos como a folha, para outros órgãos, como sementes e caule (FLOSS, 2011) e se a severidade do estresse for muito intensa ocorre a dessecação e morte da planta (HOEKSTRA et al., 2001).

A análise de variância para massa fresca de folha (MFF), massa fresca de legumes (MFL) e massa fresca de hastes (MFH), (Tabela 13), evidenciou diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as condições, genótipos e interação condição x genótipo. Deste modo, foi realizado teste de comparação de médias para estes caracteres (Tabelas 14, 15 e 16).

Tabela 13 – Resumo da análise de variância para a massa fresca de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Fonte de Variação	GL	QM		
		MFF	MFL	MFH
Condição	1	3676,11 **	1937,79 **	765,02 **
Genótipo	9	89,61 **	80,67 **	74,46 **
Condição X Genótipo	9	51,99 **	92,88 **	32,19 **
Erro	57	4,31	14,57	3,18
CV (%)		19	25	15

** ; significativo a 1% de probabilidade de erro; GL: Graus de Liberdade; QM: quadrado médio; MFF: massa fresca de folha; MFL: massa fresca de legumes; MFH: massa fresca de haste; CV(%): Coeficiente de Variação.

O maior impacto de redução de massa fresca foi observado nas folhas, onde, com exceção do BRSMG Realce que não mostrou diferença entre a MFF do controle e da DH, todas as cultivares apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) entre as duas condições impostas. Os genótipos que apresentaram maior percentual de redução da MFF na condição de DH em relação ao controle, foram IAC Milênio, BRS Esplendor e o Siriri, aqueles que apresentaram menor percentual de redução

da MFF foram BRSMG Realce, ANFC9 e IPR Tangará. Na condição de DH, não houve diferença entre genótipos analisados.

Tabela 14 – Médias da massa fresca das folhas (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MFF		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	13,6 Abc	4,15 Ba	69,49
BRSMG Realce	7,93 Ac	2,83 Aa	64,31
IPR Uirapuru	13,92 Abc	3,43 Ba	75,36
IPR Tuiuiu	18,92 Aab	4,35 Ba	77,01
ANFP110	15,34 Abc	3,3 Ba	78,49
IPR Tangará	19,67 Aab	5,75 Ba	70,77
IAC Imperador	18,14 Aab	5,00 Ba	72,44
IAC Milênio	26,11 Aa	4,60 Ba	82,38
BRS Esplendor	24,77 Aa	4,45 Ba	82,03
IPR Siriri	21,22 Aab	4,14 Ba	80,49

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MFF: massa fresca de folha; DH (R7) deficiência hídrica aplicada no estádio R7 do feijão; % Redução: percentual de redução de MFF de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Para MFH (Tabela 15) os genótipos BRSMG Realce e ANFC9 não apresentaram diferença significativa entre as condições impostas (controle e DH), ($p < 0,05$), evidenciando os menores percentuais de redução para este caractere. Na condição de DH os genótipos não se diferenciaram, entre si, pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Para o caractere MFL (Tabela 16), não ocorreu diferença significativa entre as condições impostas, controle e DH, para os genótipos ANFC9, BRSMG Realce, IPR Uirapuru, IPR Tuiuiu, IPR Tangará e IAC Imperador. Contudo, este último, apresentou o menor percentual de redução de MFL de plantas estressadas em relação ao controle. Na condição de DH, não foram evidenciadas diferenças entre genótipos. Resultados semelhantes são relatados por diversos autores (Guimarães et al., 1996; Omae et al., 2012; Gonçalves, 2013) que também encontraram redução da massa fresca em diversos órgãos das plantas decorrentes da DH.

Tabela 15 – Médias da massa fresca das hastes (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MFH		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	11,09 Acd	10,26 Aa	7,48
BRSMG Realce	5,53 Ad	5,14 Aa	6,98
IPR Uirapuru	11,93 Abcd	8,67 Ba	27,33
IPR Tuiuiu	14,51 Aabc	8,07 Ba	44,38
ANFP110	14,28 Aabc	9,32 Ba	34,73
IPR Tangará	14,39 Aabc	8,93 Ba	37,94
IAC Imperador	15,15 Aabc	9,37 Ba	38,15
IAC Milênio	18,54 Aab	8,87 Ba	52,16
BRS Esplendor	20,12 Aa	9,66 Ba	51,99
IPR Siriri	14,74 Aabc	6,35 Ba	56,92

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MFH: massa fresca de hastes; DH (R7) deficiência hídrica aplicada no estádio R7 do feijão; % Redução: percentual de redução de MFH de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Tabela 16 – Médias da massa fresca de legumes (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MFL		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	19,02 Aab	10,26 Aa	46,06
BRSMG Realce	17,64 Aab	11,66 Aa	33,90
IPR Uirapuru	14,21 Aab	8,67 Aa	38,99
IPR Tuiuiu	13,43 Aab	8,07 Aa	39,91
ANFP110	27,53 Aab	9,32 Ba	66,15
IPR Tangará	16,00 Aab	8,93 Aa	44,19
IAC Imperador	11,28 Ab	9,37 Aa	16,93
IAC Milênio	20,38 Aab	8,87 Ba	56,48
BRS Esplendor	25,80 Aab	9,66 Ba	62,56
IPR Siriri	28,86 Aa	6,35 Ba	78,00

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MFL: massa fresca de legumes; DH (R7) deficiência hídrica aplicada no estádio R7 do feijão; % Redução: percentual de redução de MFL de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Guimarães e Stone (2011) afirmam que a produtividade é inversamente proporcional a intensidade e duração do estresse e que no caso do feijoeiro, a floração é a fase fenológica mais prejudicada pela DH devido a abscisão de flores e

vagens. No presente estudo, com cultivares de feijão em casa de vegetação, a abscisão foliar também foi observada em função da DH.

Na análise de variância da massa seca (Tabela 17) verifica-se que houve diferença entre condições, genótipos e interação genótipo x condição ($p < 0,05$) para a massa seca de folha (MSF), de haste (MSH) e de legumes (MSL).

Tabela 17 – Resumo da análise de variância para a massa seca de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Fonte de Variação	GL			
		MSF	MSV	MSH
Condição	1	63,6 **	6,08 **	30,25 **
Genótipo	9	2,42 **	3,93 **	3,28 **
Condição X Genótipo	9	1,57 **	1,48 *	1,70 **
Erro	60	0,18	0,63	0,35
CV (%)		19	36	22

** e * significativo a 1%; 5% de probabilidade de erro respectivamente; GL: Graus de Liberdade; MSF: massa seca de folha; MSL: massa seca de legumes; MSH: massa seca de hastes; CV(%): Coeficiente de Variação.

Nas Tabela 18, 19 e 20 estão listadas as médias da MSF, MSH e MSL dos dez genótipos submetidos a deficiência hídrica.

A avaliação de biomassa da parte aérea está de acordo com resultados observados por Guimarães e Stone (2011); a MSF foi significativamente superior em todas as cultivares do controle e não houve diferença entre cultivares na condição de DH.

Não houve diferença na MSH entre as condições impostas para os genótipos ANFC9, BRSMG Realce, IPR Uirapuru e ANFP110, todos os outros se diferenciaram do controle quando estressados pela DH reduzindo significativamente este caractere.

A condição de DH reduziu significativamente a MSL do genótipo IPR Siriri quando comparado ao controle. Os genótipos que apresentaram os menores percentuais de redução da MSL foram IAC Imperador, IPR Tuiuiu, IPR Uirapuru e ANFC9. O BRSMG Realce apresentou maior MSL em relação ao IPR Tuiuiu e ao IPR Siriri, em condições de DH, mas não se diferenciou estatisticamente dos demais.

Tabela 18 – Médias da massa seca das folhas (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MSF		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	2,38 Acd	1,24 Ba	47,89
BRSMG Realce	1,60 Ad	1,02 Aa	36,25
IPR Uirapuru	2,79 Abc	1,39 Ba	50,17
IPR Tuiuiu	2,93 Abc	1,3 Ba	55,63
ANFP110	2,8 Abc	1,29 Ba	53,92
IPR Tangará	3,53 Aab	1,29 Ba	63,45
IAC Imperador	3,37 Aabc	1,29 Ba	61,72
IAC Milênio	4,35 Aa	1,34 Ba	69,19
BRS Esplendor	4,37 Aa	1,45 Ba	66,81
IPR Siriri	3,49 Aab	1,13 Ba	67,62

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MSF: massa seca de folha; % de Redução: percentual de redução da MSF de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Tabela 19 – Médias da massa seca das hastes (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MSH		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	2,79 Abc	2,26 Aa	19,00
BRSMG Realce	1,16 Ad	1,15 Aa	0,86
IPR Uirapuru	2,56 Ac	2,05 Aa	19,92
IPR Tuiuiu	3,47 Aabc	2,05 Ba	40,92
ANFP110	3,07 Abc	1,85 Ba	39,74
IPR Tangará	3,51 Aabc	1,94 Ba	44,73
IAC Imperador	3,25 Aabc	2,34 Aa	28,00
IAC Milênio	4,08 Aab	2,24 Ba	45,10
BRS Esplendor	4,51 Aa	2,22 Ba	50,78
IPR Siriri	3,23 Aabc	1,35 Ba	58,20

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MSH: massa seca de hastes; % de Redução: percentual de redução da MSH de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Vários autores observaram que a redução na matéria seca de plantas de feijão em função da seca e, geralmente, essa queda acompanha a intensidade do estresse (SAWASAKI et al., 1981; GOMES, et al., 2000; BOUTRAA e SANDERS, 2001; EMAM et al., 2010). Stone et al. (1988) afirmaram que a maior duração da área foliar é uma característica a ser obtida em estudos de melhoramento vegetal

para tolerância à DH na espécie.

Tabela 20 – Médias da massa seca de legumes (g) de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	MSL		
	Controle	DH (R7)	%Redução
ANFC9	1,94 Abc	1,88 Aab	3,09
BRSMG Realce	4,77 Aa	3,46 Aa	27,46
IPR Uirapuru	1,94 Abc	1,89 Aab	2,81
IPR Tuiuiu	1,33 Abc	1,30 Ab	2,20
ANFP110	3,08 Ab	1,72 Aab	44,16
IPR Tangará	1,64 Abc	1,44 Aab	12,20
IAC Imperador	1,47 Ac	1,45 Aab	1,36
IAC Milênio	1,98 Abc	1,72 Aab	13,13
BRS Esplendor	2,39 Abc	1,76 Aab	26,36
IPR Siriri	2,93 Ab	1,17 Bb	60,07

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. MSL: massa seca de legumes; % de Redução: percentual de redução da MSL de genótipos submetidos à DH em relação ao controle.

Considerando o acúmulo de prolina, a análise de variância evidenciou diferenças significativas entre as condições, genótipos e interação condição x genótipo ($p < 0,01$) (Tabela 21).

Tabela 21 – Resumo da Análise de variância para o conteúdo de Prolina (ug/mL) em folhas e raízes de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à deficiência hídrica. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Fonte de Variação	GL	QM	
		Prolina nas Folhas	Prolina nas Raízes
Condição	1	1478,46 **	3040,17 **
Genótipo	9	47,39 **	338,64 **
Condição x Genótipo	9	19603 **	209,94 **
Erro	57	2,66	3,37
CV(%)		18,62	18,72

** significativo a 1% de probabilidade de erro; GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; CV(%): coeficiente de variação.

Na Tabela 22 estão apresentadas as médias do acúmulo de prolina nas folhas e raízes dos dez genótipos de feijão, todos apresentaram maior acúmulo sob condição de estresse hídrico.

Os genótipos ANFP110, IAC Imperador, BRS Esplendor, IPR Tangará e ANFC 9 foram iguais, estatisticamente, no que se refere ao conteúdo de prolina nas folhas, quando submetidos a DH. O IPR Siriri apresentou um dos níveis de prolina nas folhas mais baixos e não se diferenciou pelo teste de Duncan, ($p < 0,05$), do IPR Uirapuru, contudo, avaliando-se o percentual de aumento do conteúdo de prolina das plantas estressadas em relação ao controle, a cultivar IPR Siriri respondeu com 83,94%, resultado este, semelhante a cultivar ANFP110, com 83,38%.

Tabela 22 – Conteúdo de Prolina (ug/mL) em folhas e raízes de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estágio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Genótipo	Folhas (ug/mL)				% Aumento nas Folhas	Raízes (ug/mL)				% Aumento nas Raízes
	Controle		DH (R7)			Controle		DH (R7)		
ANFC9	7,43	Ba	14,44	Aab	48,55	2,86	Aa	6,98	Acd	59,08
BRSMG Realce	4,61	Babc	11,17	Abc	58,73	4,06	Aa	4,25	Ad	4,47
IPR Uirapuru	2,43	Bbc	8,65	Acd	71,91	4,24	Ba	21,74	Ab	80,53
IPR Tuiuiu	4,03	Babc	12,06	Abc	66,58	6,53	Ba	31,65	Aa	79,37
ANFP110	2,84	Bbc	17,09	Aa	83,38	4,47	Ba	15,28	Abc	70,75
IPR Tangará	4,45	Babc	14,69	Aab	69,71	3,69	Ba	23,53	Aab	84,32
IAC Imperador	4,95	Bab	16,96	Aa	70,81	5,34	Ba	32,02	Aa	83,32
IAC Milênio	7,39	Ba	12,35	Abc	40,16	5,78	Ba	16,95	Ab	65,90
BRS Esplendor	5,29	Bab	16,47	Aa	67,88	0,51	Aa	2,58	Ad	80,23
IPR Siriri	1,06	Bc	6,60	Ad	83,94	0,94	Aa	2,63	Ad	64,26

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Nas raízes, considerando a condição controle, não houve diferença entre os genótipos, mas em condições de estresse, os genótipos que tiveram maior capacidade de acumular prolina foram IAC Imperador, IPR Tuiuiu e IPR Tangará, seguido pelo IPR Uirapuru e IAC Milênio.

O resultado da análise de acúmulo de prolina nas raízes mostrou comportamentos semelhantes das cultivares BRSMG Realce, BRS Esplendor e IPR Siriri. Enquanto que o percentual de aumento de prolina nas raízes de plantas estressadas em relação ao controle mostrou que apenas a cultivar BRSMG Realce não apresentou capacidade para acumular este aminoácido nas raízes.

A cultivar IAC Imperador, que obteve o menor percentual de redução

de rendimento de grãos (43,4%) e o menor ISS, sob DH apresentou o maior acúmulo de prolina somando folhas e raízes, revelando que o conteúdo de prolina pode ser um indicador de tolerância à seca.

Uma das características mais comuns em plantas sob estresse hídrico é o acúmulo de prolina nas células (Nepomuceno et al., 2001; Mwenye et al., 2016) e têm sido sugerido como um mecanismo de ajuste osmótico para tolerância à DH (DELAUNEY e VERMA, 1993; MWENYE et al., 2016).

Rodrigues et al. (2009) verificaram, em cultivares de soja transgênica sob deficiência hídrica, acréscimo do acúmulo de prolina foliar em função da queda no potencial hídrico em todos os genótipos estudados. No entanto, Sawasaki et al. (1981) também encontraram acúmulo crescente de prolina com 9 e 14 dias após a aplicação do estresse por corte de irrigação em cultivares de feijoeiro comum, mas verificaram que aquelas que tiveram maior acúmulo foram as mais prejudicadas pela seca.

O acúmulo de solutos ocorre como uma resposta fisiológica ao estresse induzido pela DH, salinidade, calor ou frio. Alguns autores, Delauney e Verma, 1993; Shen et al., 2015, Mwenye et al., 2016, afirmam que o acúmulo de prolina está relacionado com a tolerância das plantas ao estresse causado por seca.

Tanto as plantas sensíveis quanto as tolerantes à seca tem condições de acumular prolina. No entanto, o acúmulo ocorre em concentrações mais elevadas em genótipos tolerantes. Estudos com petúnia, tabaco, soja, feijão, arroz e trigo, a superprodução da enzima responsável pela síntese de prolina, Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS), conferiram maior osmoproteção e tolerância as plantas à DH (YAMADA et al., 2005; MWENYE et al., 2016).

Por outro lado, quando analisados os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis (Tabela 23), não houve associação significativa ($p < 0,05$) entre o acúmulo de prolina na raiz ou folhas e os demais caracteres analisados. Conforme esperado, houve correlação elevada entre MG e o rendimento em ambas condições (controle e DH), uma vez que a massa de grãos foi utilizada para estimar o rendimento de grãos.

Estimativas de correlação fornecem ampla possibilidade de utilização no melhoramento genético de plantas, principalmente para caracteres de difícil seleção, em função de dificuldades de avaliação e de identificação ou da baixa herdabilidade; e, além disso, apresentar alta correlação com outro caractere de alta

herdabilidade e fácil aferição (CARVALHO et al., 2004).

Na condição controle houve maior frequência de correlações significativas. Nesta condição, destacaram-se algumas correlações negativas, como por exemplo, entre NGP e MCG ($r=-0,92$), NLV e MCG ($-0,80$) indicando que quanto maior é o NGP e NLV menor é a MCG. Correlações negativas entre EUA e NLP, NGP, MG e Rend também foram observadas, por outro lado, foi observada correlação positiva entre EUA e MCG indicando que, apesar de estar negativamente correlacionada com o rendimento de grãos, quanto maior é a eficiência do uso da água maior é o acúmulo de fotossintatos nos grãos (MCG), contudo, este caractere, quando isolado não garante maior rendimento de grãos.

Na condição de DH, foram observados menor número de correlações significativas em relação ao controle. Correlações negativas, de alta magnitude foram observadas entre EUA e $CiCO_2$ ($r=-0,84$); e NGP e GF ($r=-0,83$). Isso significa que na condição de deficiência hídrica, quanto maior a eficiência do uso da água em feijão, menor é a concentração de carbono interno; e também, quanto maior o NGP, menor é a quantidade de GF.

Correlações positivas, de alta magnitude, foram observadas nas plantas de feijão submetidas a DH. Destacaram-se as correlações entre NGP e Rendimento ($0,72$), CE e TR ($r=0,99$); TAs CO_2 e CE ($r=0,98$); TAs CO_2 e TR ($r=0,98$); ficando claro que a TR está totalmente dependente da CE, assim como a TAs CO_2 .

Dalchiavon e Carvalho (2012) realizaram experimento com a cultura da soja e avaliaram os componentes de rendimento; com o objetivo de efetuar correlações lineares, utilizaram a matriz de correlação de Pearson e verificaram que do ponto de vista linear e espacial o número de vagens por planta e a massa de grãos por planta correlacionaram-se de forma direta com a produtividade da soja, demonstrando serem os melhores componentes para estimá-la.

Vários trabalhos comparando o desenvolvimento de plantas em condições ótimas com condições de déficit hídrico demonstraram que a falta de água diminui o tamanho de plantas e de folhas, reduz a massa fresca e massa seca dos diferentes órgãos das plantas, promove abscisão de folhas e queda na produtividade de grãos e frutos (GOMES, et al., 2000; BOUTRAA e SANDERS, 2001; EMAM et al., 2010; GONÇALVES, 20133; MORALES et al., 2015).

Tabela 23 – Correlação de Pearson entre os caracteres avaliados em 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Controle					Deficiência Hídrica (R7)				
Variável a	Variável b	r	Probabilidade (%)		Variável a	Variável b	r	Probabilidade (%)	
NGP	x	MCG	-0,9277	0,0151 **	EUA	x	CiCO ₂	-0,8397	0,2483 **
NLP	x	EUA	-0,8601	0,1526 **	NGP	x	GF	-0,8343	0,2803 **
NGP	x	EUA	-0,8163	0,4063 **	NGL	x	GF	-0,6725	3,2161 *
NLL	x	MCG	-0,8028	0,5245 **	NLP	x	NLL	-0,662	3,5972 *
NGL	x	MCG	-0,8019	0,5323 **	% EF	x	NGL	0,6956	2,4839 *
NLL	x	MSL	-0,7817	0,7552 **	NGP	x	MGP	0,697	2,4422 *
MCG	x	MFH	-0,7578	1,0978 *	NGP	x	Rend	0,7157	1,9483 *
MGP	x	EUA	-0,6861	2,768 *	% EF	x	MFF	0,7306	1,6076 *
NGL	x	GF	-0,6824	2,886 *	MSF	x	MSH	0,7381	1,4524 *
EUA	x	Rend	-0,6688	3,3468 *	NGP	x	NGL	0,7786	0,7945 **
MCG	x	EUA	0,6294	4,9689 *	MSF	x	MFH	0,8248	0,3423 **
TAsCO ₂	x	MFF	0,6496	4,0822 *	MSR	x	MFR	0,84	0,2472 **
TR	x	MSH	0,6512	4,0168 *	MSH	x	MFH	0,889	0,067 **
NLP	x	MSF	0,6639	3,5243 *	MSL	x	MFL	0,8907	0,0635 **
Rend	x	MSR	0,665	3,4869 *	TAsCO ₂	x	TR	0,985	0,0002 **
NGP	x	NGL	0,6853	2,7945 *	TAsCO ₂	x	CE	0,9886	0,0001 **
% EF	x	MSF	0,6883	2,6996 *	CE	x	TR	0,9938	0 **
NLP	x	Rend	0,6918	2,5939 *	MGP	x	Rend	0,9964	0 **
NLP	x	MFF	0,6951	2,4988 *					
NLP	x	MGP	0,6972	2,4367 *					
MGP	x	MSR	0,7031	2,2716 *					
CiCO ₂	x	MSR	0,7084	2,1316 *					
NLP	x	MFC	0,7285	1,6533 *					
CE	x	TR	0,7309	1,6013 *					
MSR	x	MFR	0,7352	1,5102 *					
TR	x	MSF	0,7464	1,2942 *					
NLP	x	NGP	0,7713	0,8939 **					
TR	x	MFF	0,7971	0,581 **					
TR	x	MFC	0,8074	0,4817 **					
NGP	x	MFC	0,8155	0,4124 **					
NLL	x	NGL	0,8262	0,3325 **					
TAsCO ₂	x	TR	0,8372	0,2626 **					
MSF	x	MFH	0,8415	0,2389 **					
TAsCO ₂	x	CE	0,8674	0,1259 **					
MSH	x	MFH	0,8831	0,0805 **					
MSH	x	MFF	0,8894	0,0661 **					
MSF	x	MSH	0,9132	0,0283 **					
MFF	x	MFH	0,9221	0,0196 **					
MSF	x	MFF	0,9496	0,0046 **					
MGP	x	Rend	0,9968	0 **					

Estão representadas apenas as correlações significativas a 5% (*) ou a 1% (**). r = coeficiente de correlação de Pearson.

De acordo com os resultados deste experimento, a DH aumenta o percentual de estômatos fechados na maioria dos horários avaliados e reduz a CE que conseqüentemente interfere na fotossíntese. No entanto, avaliando especificamente a condição de DH, algumas das correlações positivas das variáveis que se destacaram foram % EF e NGL ($r=0,69$); e % EF com MFF ($r=0,73$), o que indica que em condições de estresse, o fechamento estomático contribuiu para a maior MFF e NGL, provavelmente pelo fato deste mecanismo evitar a perda de água pela planta e caso ele não ocorresse possivelmente a planta morreria dessecada com pouco tempo de estresse mais intenso.

Considerando os 25 caracteres avaliados (incluindo parâmetros fisiológicos e agrônômicos) foi calculada a dissimilaridade genética entre os genótipos, baseada na distância generalizada de Mahalanobis. Os caracteres que mais contribuíram para a divergência entre os genótipos (Tabela 24) foram %EF, NLL, MFF, MGP, Rend e MFH contribuem juntos para 64,87% da variabilidade encontrada na condição controle. Na condição de DH, o caractere acúmulo de prolina na raiz, Rend, % EF, MGP e NGP contribuíram com 66,37% para a divergência na condição de DH, o fato de acúmulo de prolina na raiz representar 33,88% da divergência indica que houve grande variação entre os genótipos para esta característica nesta condição de estresse.

Com base na matriz de distâncias, foi realizado agrupamento pelo método de otimização de Tocher (Tabela 25) visando encontrar os genótipos mais dissimilares na condição controle e DH.

Neste experimento, a condição de estresse, aplicada durante o florescimento das cultivares, discriminou melhor os genótipos possibilitando a formação de cinco grupos, enquanto na condição controle foram observados três grupos. Em ambas condições, o genótipo Siriri foi o mais dissimilar.

Na DH, o grupo I, que no controle era formado por oito genótipos, reduziu para quatro genótipos (PR Tuiuiú, IAC Imperador IPR Tangará, IPR Uirapuru), exatamente os quatro genótipos que mais acumularam prolina na raiz. Os genótipos IAC Milênio e BRS Esplendor formaram o grupo II. ANFC9 passou a compor o mesmo grupo de BRSMG Realce, que estava isolado no grupo II na condição controle. O ANFP110 que no controle foi similar a maioria dos genótipos, na DH formou um grupo isolado, o grupo IV, e IPR Siriri manteve-se sozinho no

último grupo (V). A maior quantidade de grupos na condição de DH evidenciou a pressão de seleção exercida pelo fator estresse para discriminar os genótipos, enquanto que no controle, em situação favorável eles apresentaram desenvolvimento semelhante.

Estas análises demonstraram que aumento dos níveis de prolina nas células da raiz realmente ocorre em resposta a DH, mas que nem sempre os genótipos que mais acumulam prolina são aqueles que apresentam maior tolerância à DH. Isto ocorre porque a tolerância à seca é dependente da expressão de várias categorias de genes; entre eles estão genes que induzem o ajuste osmótico (prolina, açúcares), genes codificadores de proteínas Lea, proteínas de choque térmico, aquaporinas, ácido abscísico e ubiquitina (NEPOMUCENO, 2001).

Em experimento para a comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo, Bertan et al., (2006), concluíram que as técnicas de Tocher, MDS e UPGMA foram eficientes e a decisão de qual método de agrupamento ser empregado deve partir da sensibilidade do pesquisador. Afirmaram também que o uso da distância genética através e caracteres fenotípicos é uma técnica auxiliar de grande importância nos programas de melhoramento genético de plantas, fornecendo informações úteis na caracterização, conservação e utilização dos recursos genéticos disponíveis.

Teixeira, (2014), realizou a caracterização radicular de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e verificou a correlação com o déficit hídrico. Ele avaliou 1000 genótipos pertencentes ao Banco de Germoplasma de Feijoeiro do Instituto Agrônomo – IAC. Após, utilizou o método de otimização de Tocher com a finalidade de identificar grupos dissimilares.

Tabela 24 – Contribuição relativa dos caracteres para a divergência entre os genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) baseada na distância generalizada de Mahalanobis em análise com 10 genótipos submetidos à duas condições hídricas: controle e DH no estádio R7. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Controle		Deficiência Hídrica (R7)	
Variáveis	Frequência (%)	Variáveis	Frequência (%)
% EF	28,6997	Prolina Raiz	33,8892
NLL	11,2899	Rend	9,7423
MFF	9,6126	% EF	8,4298
MGP	8,1947	MGP	7,4898
Rend	7,0779	NGP	6,8197
MFH	5,9530	MFH	3,6496
MSF	3,7289	NLP	3,5258
TR	3,7070	MFR	3,1840
NGL	3,3202	CiCO ₂	3,0858
Prolina Raiz	3,1442	MSL	2,9801
NGP	2,9608	MFL	2,2293
MSH	2,6714	MCG	2,2163
MFR	1,7058	EUA	1,9707
TAsCO ₂	1,6119	NGL	1,8022
GF	1,2764	GF	1,8004
Prolina Folha	1,0694	MSR	1,6068
NLP	0,9860	TR	1,2045
CE	0,7979	MFF	1,1381
MSL	0,7871	MSH	1,0303
MCG	0,6306	TAsCO ₂	0,7983
CiCO ₂	0,4529	NLL	0,7731
MSR	0,2680	MSF	0,3380
EUA	0,0476	Prolina Folha	0,1628
MFL	0,0062	CE	0,1333

% EF (Percentual de estômatos fechados); EUA (eficiência do uso da água); TAsCO₂ (assimilação de CO₂); CiCO₂ (concentração interna de CO₂); TR (transpiração); CE (condutância estomática); MFL (massa fresca de legumes); MFF (massa fresca da folha); MFH (massa fresca das hastes); MFR (massa fresca de raiz); MSL (massa seca de legumes); MSR (massa seca da raiz); MSF (massa seca da folha); MSH (massa seca das hastes); MGP (massa de grãos por planta); NLL (número de lóculos por legume); NGL (número de grãos por legume); NLP (número de legumes por planta); NGP (número de grãos por planta); GF (grãos falhos); MCG (massa de 100 grãos); Rend (Rendimento de grãos em kg ha⁻¹).

Tabela 25 – Agrupamento segundo o método de otimização de Tocher com base na distância generalizada de Mahalanobis incluindo os 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nas condições controle de deficiência hídrica (DH). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

Condição Controle		DH (R7)	
Grupo	Genótipos	Grupo	Genótipos
I	IPR Uirapuru, IPR Tuiuiú, ANFP110, BRS	I	IPR Tuiuiú, IAC Imperador IPR
	Esplendor, IPR Tangará, IAC Imperador		Tangará, IPR Uirapuru
	IAC Milênio, ANFC9		
II	BRSMG Realce	II	IAC Milênio e BRS Esplendor
III	IPR Siriri	III	ANFC9 e BRSMG Realce
		IV	ANFP110
		V	IPR Siriri

5.3 Análises Moleculares

O resultado das PCRs em géis de agarose estão representados nos apêndices A-G. Os *primers* desenhados possibilitaram a amplificação de fragmentos polimorfismos nas sequências de DNA dos promotores de genes responsivos a seca.

O dendrograma gerado (Figura 7) apresentou um coeficiente de correlação cofenética de 0,93. Considerando que o coeficiente de correlação cofenética mede o grau de ajuste entre a matriz de similaridade original e a matriz resultante da simplificação proporcionada pelo método de agrupamento, é possível afirmar que houve um bom ajuste pois quanto mais próximo de 1, menor será a distorção provocada pelo agrupamento dos indivíduos com o método UPGMA (MEYER, 2002).

Conforme esperado, considerando que são cultivares modernas com base genética restrita, a dissimilaridade média observada entre os 10 genótipos foi baixa, com valor de 0,22, considerando que o valor de máxima dissimilaridade é de 1,0. Esta baixa dissimilaridade entre os genótipos já era esperada devido as características dos marcadores utilizados, os quais acessam regiões conservadas do genoma do grupo de genótipos evidenciando baixo polimorfismo.

Considerando como ponto de corte para a formação dos grupos a dissimilaridade média, foi observada a formação de quatro grupos. O grupo I composto por dois subgrupos, sendo o subgrupo I formado pelos genótipos ANFC9,

BRSMG Realce, IAC Imperador, BRS Esplendor, IPR Siriri, e o subgrupo II composto por IPR Tuiuiú e ANFP 110. O grupo II formado pelo genótipo Uirapuru, o grupo III incluiu IPR Tangará e o grupo IV pelo genótipo IAC Milênio.

O genótipo IAC Imperador que destacou-se em relação a tolerância à seca para os caracteres agronômicos, foi incluído junto a outros que apresentaram maior suscetibilidade à seca e maior percentual de redução do rendimento indicando que os polimorfismos genéticos acessados por este marcador provavelmente não estejam influenciando diretamente na tolerância à DH deste grupo de genótipos.

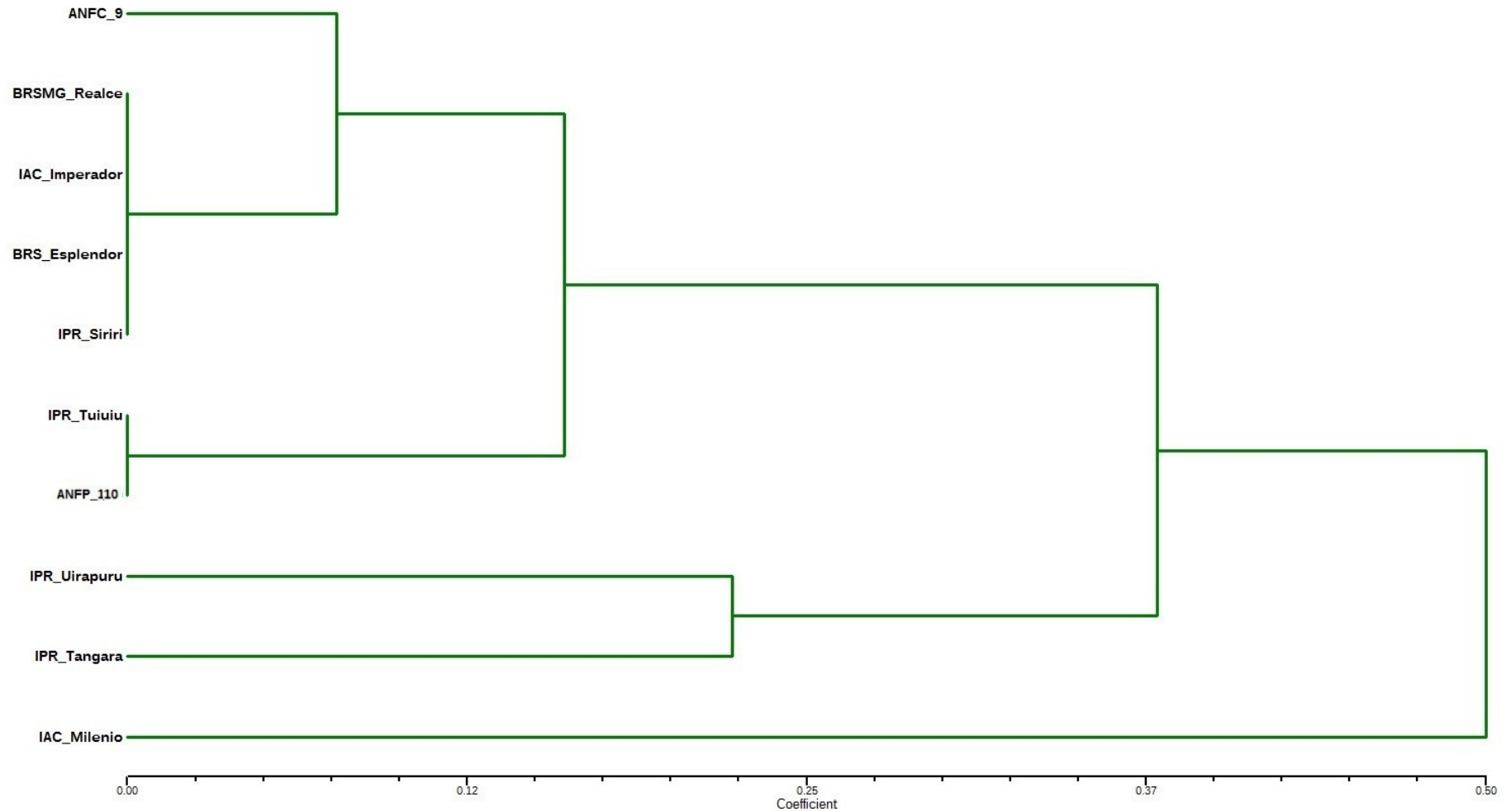


Figura 8 – Dendrograma de dissimilaridade genética gerado a partir da matriz de distância Euclidiana, com agrupamento pelo método UPGMA mostrando as relações genéticas entre os 10 genótipos a partir dos resultados dos pares de iniciadores desenhados para genes e promotores responsivos ao déficit hídrico. Dissimilaridade média 0,22. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2016.

6 CONCLUSÕES

Os genótipos IAC Imperador e BRS Esplendor destacam-se entre os dez avaliados em relação à tolerância à DH no estágio de desenvolvimento R7 e apresentam o menor índice de suscetibilidade à seca.

O estresse causado pela DH, no estágio R7, não reduz o número de legumes por planta no genótipo BRSMG Realce e os genótipos IPR Tuiuiu (28,44%), IAC Imperador (39,11%), BRS Esplendor (43,05%) e IPR Tangará (45,10%) apresentam menor percentual de redução de número de legumes por planta. Por outro lado, a MGP de todos os genótipos reduz significativamente com o estresse, sendo os menores percentuais de redução na massa evidenciados pelos genótipos IAC Imperador (43,36%), BRSMG Realce (58,51%) e BRS Esplendor (60,56%).

Todos os genótipos avaliados têm redução do número de grãos por planta quando estressados pela DH no estágio R7, os menores índices de redução são observados para BRSMG Realce (44,4%) e IAC Imperador (48,01%).

O genótipo IAC Imperador possui maior capacidade de acúmulo de prolina, somando-se o acúmulo de folhas e raízes, menor redução do rendimento em condições de DH e o percentual de estômatos fechados permanece uniforme ao longo do dia, quando a quantidade de água no solo atinge 16% em relação a capacidade de campo.

Entre os dez genótipos analisados, nem sempre aqueles que acumulam mais prolina na raiz, são os que apresentam maior tolerância à seca. No entanto, o caractere acúmulo de prolina na raiz é o que mais contribui para a divergência genética entre os genótipos na DH.

Na condição de DH há correlação positiva entre percentual de estômatos fechados com número de grãos por legume e massa fresca da folha, indicando que o fechamento estomático (até determinado ponto) contribui para a formação de grãos e expansão foliar, provavelmente por reduzir a taxa de transpiração em condições de estresse.

Os polimorfismos nas sequências de DNA, codificadoras e promotores, de genes de fatores de transcrição usados neste experimento não discriminam os dez genótipos entre tolerantes e sensíveis à DH.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R.S.; MODA-CIRINO, V.; FARIA, R.T.; VIDAL, L.H.I. Avaliação de linhagens promissoras de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes ao déficit hídrico. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.29, n. 1, p. 1-14, jan/mar. 2008.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, v. 55, p. 373-399, 2004.
- BASU, P.; ZHANG, Y.; LYNCH, J. P.; BROWN, K. M. Ethylene modulates genetic, positional, and nutritional regulation of root plagiogravitropism. Victoria: Functional Plant Biology, 2007. v34. p. 41-51.
- BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 1973. p. 205-207.
- BERGAMASCHI, H.; VIEIRA, H. J.; OMETTO, J.C.; ANGELOCCI, L. R.; LIBARDI, P. L. DHem feijoeiro. Análise de crescimento e fenologia. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 1988.
- BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G.; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. Pelotas: Revista Brasileira Agrociência, 2006. p. 279-286.
- BEZERRA, A. A. C.; TÁVORA, F. J. A. F.; FILHO, F. R. F.; RIBEIRO, V. Q. Características de dossel e de rendimento em feijão-caupi ereto em diferentes densidades populacionais. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2009. p. 1239-1245.
- BOUTRAA, T. e SANDERS, F. E. Influence of Water Stress on Grain Yield and Vegetative Growth of Two Cultivars of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Berlin: J. Agronomy & Crop Science 187, 2001.
- BOYER, J. S. Water deficits and photosynthesis. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Water deficits and plant growth**. New York: Academic, 1976. v. 4, p. 153-190.
- BOYER, J. S. Plant productivity and environment. Science, 1982. 218, p. 443-448.
- BRAY, E. A. Molecular responses to water deficit. California: Plant Physiol., 1993.
- BRAY, E. A. Plant Response to Water-deficit Stress. California: Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group, 2001.
- BROWN, R. W. Water relations of range plants. Rangerland plant physiology.

Colorado: R.E. Sosebee, 1977.

CARVALHO, F.I.F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal. Pelotas: Editora e Gráfica da UFPel, 2004. 142p.

CEPEF, Comissão Estadual de Pesquisa de Feijão. **Recomendações técnicas para cultivo no Rio Grande do Sul**. Santa Maria: UFSM, 2000. 80p.

CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. **Diversidad genética de las especies cultivadas del género Phaseolus**. Cali, Colômbia, 1980. 52p.

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H.P. Plant water relations: absorption, transport and control mechanisms. In: MONTANARO, G.; DICHIO, B. (Org.). **Advances in selected plant physiology aspects**. Rijeka: Intech, 2012. v.1, p.105-132.

COELHO, J. B. M.; NETO, E. B.; BARROS, M. F. C.; ALBUQUERQUE, E. R. G. Potencial osmótico do feijão vigna cultivado em solos salinizados. Recife: III Congresso Nacional de Feijão Caupi (CONAC), 2013.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamentos de Safra**. Brasília, 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

CHRISTMANN, A.; GRILL, E.; HUANG, J. Hydraulic signals in long-distance signaling. Germany: Plant Biology, 2013.

CRUZ, O. C.; SANTANA, M. J.; BORGES, R. D.; CAMPOS, T. M.; SOUZA, S. S.; SILVA, F. M. Eficiência do uso da água para quatro cultivares de feijão na região de Uberaba – MG. Fortaleza: IV Workshop Internacional de Inovações Tecnológicas na Irrigação, 2012.

DEBOUCK, D. G.; TORO, O.; PAREDES, O. M.; JOHNSON, W. C.; GEPTS, P. Genetic Diversity and Ecological Distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in Northwestern South America. New York: *Economic Botany* 47 by The New York Botanical Garden, 1993. p. 408-423.

DELAUNEY, A.; VERMA, D. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.*, 1993. p. 215-223.

DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.

DUTRA, A. F.; MELO, A. S.; FILGUEIRAS, L. M. B.; SILVA, A. R. F.; OLIVEIRA, I. M.; BRITO, M. E. B. Parâmetros fisiológicos e componentes de produção de feijão-caupi cultivado sob deficiência hídrica. Recife: *Agrária – Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 2015.

EMAM, Y.; SHEKOOFA, A.; SALEHI, F.; JALALI, A. H. Water Stress Effects on Two Common Bean Cultivars with Contrasting Growth Habits. Iran: American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 2010.

FANCELLI, A. L.; BRANDALIZZE, W.; QUEIROZ, E. V.; LOIOLA, T.A.; PRADO, H.; VITTI, G.C.; MACHADO, B. A.; NARDI, K.T.; VALE, F.; FILHO, A. P.; MENEZES, J.R. Feijão. Fatores influentes na produção. ed. II. Piracicaba: USP/ESALQ/LPV, 2015. 137 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2015 - *About the International Year of Pulses*. Disponível em: <<http://www.fao.org/pulses-2016/en/>>

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Food and Agricultural commodities production. Countries by commodities. Beans, dry, 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

FERNÁNDEZ, F. de C.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Características Generales del Desarrollo del Frijol. Cali: CIAT, 1986. 34p.

FERNÁNDEZ, C.J.; McINNIS, K.J.; COTHREN, J.T. Water status and leaf area production in water-and nitrogen-stressed cotton. Madison: Crop Science, v.36, p.1224-1233, 1996.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**. Passo Fundo: UPF Editora, 2011.

FREITAS, F.O. Estudo genético – evolutivo de amostras modernas e arqueológicas de milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). 2001. 124p (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001.P.

GEPTS, P.; BLISS, F. A. F1 hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. Madison: Journal Heredity, v. 76, p. 447-450, 1985.

GEPTS, P.; OSBORN, T. C.; RASHKA, K.; BLISS, F. A. Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. New York: Economic Botanic., v. 40, p. 451-468, 1986.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: van Shoonhoven, A.; Voysest, O. (eds.). Common beans: research for crop improvement. Wallingford: CAB International. p. 7-53, 1991.

GOMES, A. A.; ARAÚJO, A. P.; ROSSIELLO, R. O.; PIMENTEL, C. Acumulação de biomassa, características fisiológicas e rendimento de grãos em cultivares de

feijoeiro irrigado e sob sequeiro. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2000.

GONÇALVES, J. G. R. **Identificação de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à seca**. 2013. 82p Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; BRUNINI, O. Adaptação do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à seca. Produtividade e componentes agronômicos. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 1996.

GUIMARÃES, C. M. e STONE, L. F. Simpósio sobre Tolerância à Deficiência Hídrica em Plantas: Adaptando as Culturas ao Clima do Futuro. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. p. 57.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; SOUZA, J. M. B.; CAMPOS, R. P.; SILVA, J. M. M. Tolerância à deficiência hídrica em feijoeiro: divergência fenotípica na condutância estomática, transpiração e fotossíntese. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2014.

HAAG, H. P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H.; GARCIA BLANCO, H. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. Campinas: Bragantia, 1967.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A. & BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation. Trends in Plant Science: 2001.

IAPAR, INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no estado do Paraná. Londrina: IAPAR, 2003. 30p. (IAPAR. Circular, 128).

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

KRAMER, P. J. e BOYER, J. S. Water relations of plants and soils. New York: Academic Press, 1995.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 550p.

LEONARDO, M.; BROETTO, F.; COSCOLIN, R.B.S.; BRESSAN, D.F.; MARCHESE, J.A.; CAMPOHERMOSO, M.A.C.; GOMES, E.R. Biochemical changes during the induction of mineral stress in plants of bell pepper cultivated in fertigation system. IDESIA (Chile), v. 32, no 1, p. 9-16, Enero-Febrero, 2014.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25 – Projeções de Longo Prazo. 6. ed. 109 p. Brasília, julho de 2015.

MAUAD, M.; CRUSCIOL, C. A. C.; FILHO, H. G. Produção de massa seca e nutrição de cultivares de arroz de terras altas sob condição de déficit hídrico e adubação silicatada. Londrina: Ciências Agrárias, 2011.

MEDRANO, H.; ESCALONA, J. M.; BOTA, J.; GULIAS, J.; FLEXAS, J. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, v.89, n.7, p.895-905, 2002.

MENESES, C.H.S.G.; LIMA, L.H.G.M.; LIMA, M.M.A.; VIDAL, M.S. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. *Campina Grande: Rev. bras. ol. fibros.*, v.10, n.1/2, p.1039-1072, jan./ago. 2006.

MITSUMA, N.; OHME-TAKAGI, N. Functional Analysis of Transcription Factors in Arabidopsis. ***Plant and Cell Physiology***. v.50, n.7, p.1232–1248, 2009.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 58, p. 459-481, 2007.

MUÑOZ, G.; GIRALDO, G.; FERNÁNDEZ DE SOTO, J. Descriptores varietales: arroz, frijol, maíz, sorgo. Cali: CIAT, 1993. 169 p. (CIAT. Publicación, 177).

MULLIGAN, R.M.; CHORY, J.; ECKER, J.R.; 1997. Signaling in plants. *Proceedings of the National Academic Sciences*, v.94, p.2793-2795, 1997.

MWENYE, O. J.; RENSBURG, L.; BILJON, A.; MERWUE, R. The role of proline and root traits on selection for drought-stress tolerance in soybeans: a review. *Africa: South African Journal of Plant and Soil*, 2016.

NEPOMUCENO, A. L.; STEWART J. M.; OOSTEHUIS, D. M.; TURLEY, R.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B. Isolation of a cotton NADP(H) oxidase homologue induced by drought stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2000.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. *Mecanismos fisiológicos e moleculares. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v. 04, n. 23, p. 12-18, 2001.

NEPOMUCENO, A. L.; FUGANTI, R.; KANAMORI, N.; PEREIRA, S. S.; RODRIGUES, F. A.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; MARCELINO, F. C. Estratégias de Engenharia Genética para Tolerância à Seca em Plantas Através da Expressão de Fatores de Transcrição. *Simpósio sobre a Tolerância à Deficiência Hídrica em Plantas*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2011.

NOGUEIRA, A.; MARTINEZ, C. A.; FERREIRA, L. L.; PRADO, C. H. B. A. Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a brazilian reforestation. *São Carlos: Photosynthetica*, 2004. p. 351-356.

OECD *Observer* nº 278, March. 2010. p. 22. Disponível em: <https://issuu.com/oecd.publishing/docs/oecdobserver_278_march2010>. Acesso em: 21 mar. 2016.

OLIVEIRA, A. D. de; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. de J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. Jaboticabal: Engenharia Agrícola Jaboticabal, 2005.

OLIVEIRA, A. E. S.; SIMEÃO, M.; MOUSINHO, F. E. P.; GOMES, R. L. F. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. Piauí: Holos, ano 30, vol. 01, 2014.

OMAE, H.; KUMAR, A.; SHONO, M. Adaptation to High Temperature and Water Deficit in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the Reproductive Period. Japan: Journal of Botany, 2012.

OSPINA, O. H. F.; DEBOUCK, D. G. Morfologia de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.): guia de estudio. 2. ed. Cali: CIAT, 1981. 50 p.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D.; TURCO, J. E. P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. Jaboticabal: Engenharia Agrícola, 2005.

PEREIRA, J.W. DE L., MELO FILHO, P. DE A., ALBUQUERQUE, M.B., NOGUEIRA, R.J.M.C., SANTOS, R.C., 2012. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. Revista Ciência Agronômica, v. 43, n. 4, p. 766–773, out-dez, 2012.

PIMENTEL, C. **A Relação da Planta com a Água**. Rio de Janeiro: Editora Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2004. 191 p.

PIMENTEL, C.; PEREZ, A. J. de L. C. Estabelecimento de parâmetros para avaliação de tolerância à seca, em genótipos de feijoeiro. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2000. p. 31-39.

RODRIGUES, O.; LHAMBY, J.C.B.; DIDONET, A.D.; MARCHESE, J.A.; SCIPIONI, C. Efeito da DHna produção de trigo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.33, n.6, p.839-846, jun, 1998.

RODRIGUES, O.; TEIXEIRA, M.C.; COSTENARO, E.R.; BERTAGNOLLI, P.F.; GATTO, K.P. Atividade da redutase do nitrato e acúmulo de prolina livre em genótipos de soja transgênica (BRS-RR) sob deficiência hídrica. Embrapa: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 71. Passo Fundo – RS, 2009.

ROHLF F.James; NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. **Exeter Software**, New York. 2000. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/246982444_NTSYS-

[pc_Numerical_Taxonomy_and_Multivariate_Analysis_System_Version_2.20k>](#)

Acessado em Abril de 2015.

ROSA, L.M.; DILLENBURG, L.R.; FORSETH, I.N. Responses of soybean leaf angle, photosynthesis and stomatal conductance to leaf and soil water potential. London: Annals of Botany, v.67, n.1, p.51-8, 1991.

SAMBROOK, Joseph, FRITSCH, E.F., MANIATIS, T. Molecular cloning a laboratory manual, 2nd Ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, V. 3, 1989.

SARTORI, Felipe Fadel. Caracterização fisiológica e hormonal de plantas de feijão (cv. IAC Imperador) submetidas à deficiência hídrica. 2015. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz.

SAWAZAKI, H. E.; TEIXEIRA, J. P. F.; ALMEIDA, L. A. Estresse de água no crescimento, produtividade e acúmulo de prolina m feijão. Campinas: Bragantia, 1981.

SILVA, H.T. Análise da divergência genética do germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) melhorado e tradicional (Crioulo) cutlivado no Brasil, e das formas Silvestres de origem Centro e Sul Americana. 1999. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA, H.T. e COSTA, A.O. Caracterização Botânica de Espécies Silvestres do Gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae). Santo Antonio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 40p. (Embrapa. Documentos, 156).

SILVA, H.T. Descritos Mínimos Indicados para Caracterizar Cultivares/Varietades de Feijão Comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Santo Antonio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 32p. (Embrapa. Documentos, 184).

SILVA, J.C. Épocas de menor risco de estresse hídrico e térmico para o feijoeiro na região central do Rio Grande do Sul. 2005. 64f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade de Santa Maria-UFSM, Santa Maria.

SINGH, S. K.; REDDY, K. J. Regulation of photosynthesis, fluorescence, stomatal conductance and water-use efficiency of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) under drought. Mississippi: Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v.105, n.1, p.40-50, 2011.

SHEN, X.; DONG, Z.; CHEN, Y. Drought and UV-B radiation effecton photosynthesis and antioxidant parameters in soybean and maize. Acta Physiologiae Plantarum, 2015.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal trasduction in water-stress response. Plant Physiol, 1997.

SCHMUTZ, Jeremy; MCCLEAN, Phillip E; MAMIDI, Sujan; WU, G Albert; CANNON, Steven B; GRIMWOOD, Jane. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*. Nature Publishing Group. Jun.2014. Disponível em: <<http://www.nature.com/ng/journal/v46/n7/full/ng.3008.html>> Acessado em 03 Jan. 2015.

SCHULZE, E. D. Carbon dioxide and water vapour exchange in response of drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 37: 247-274, 1986.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

SOUZA, T. L. P. O et al. Cultivares de feijão comum da Embrapa e parceiros disponíveis para 2013. Comunicado Técnico 211. Embrapa Arroz e Feijão. P.6-11, Santo Antônio de Goiás, GO, 2013.

STONE, L. F.; PORTES, T. A.; MOREIRA, J. A. A. Efeitos da tensão da água do solo sobre a produtividade e crescimento do feijoeiro. II. Crescimento. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TEIXEIRA, G. C. S.; STONE, L. F.; HEINEMANN, A. B. Eficiência do uso da radiação solar e índices morfofisiológicos em cultivares de feijoeiro. Goiania: Empresa Agropecuária Tropical, 2015. p. 9-17.

THUNG, M. D. T. e OLIVEIRA, I.P. Problemas abióticos que afetam a produção do feijoeiro e seus métodos de controle. Fatores abióticos limitantes da produção. Santo Antônio de Goiás, GO: EMBRAPA-CNPAP, 1998. p. 69.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P. Melhoramento de feijão. In.: BORÉM, A. (ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, MG: Editora UFV: 1999. p.271-349.

VIEIRA, N. M. B.; Crescimento e marcha de absorção de nutrientes no feijoeiro cvs. BRS-MG Talismã e Ouro Negro, em plantio direto e convencional. 2006. 145p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

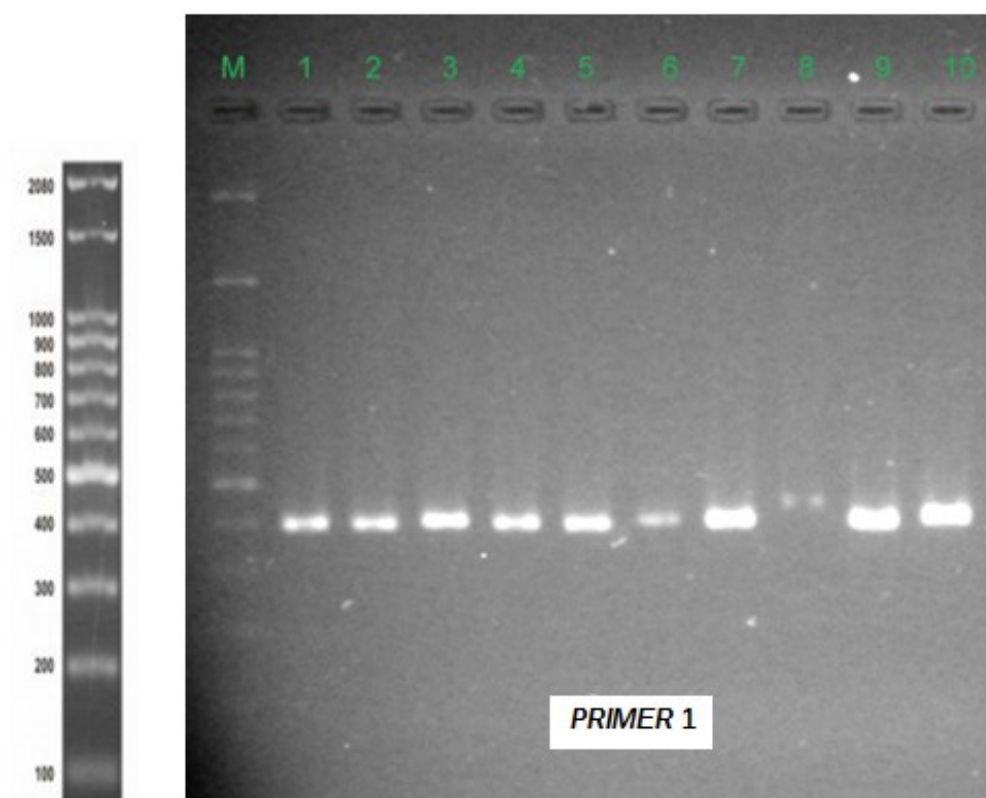
VOLTAN, R. B. Q.; WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A.; AMBROSANO, E. J.; SORDI, G.; PEREIRA, J. C. V. L. A. Comparação da morfologia de folhas lisas e rugosas de plantas de feijoeiro. Campinas: Bragantia, 1991.

YAMADA, M.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; SHINOZAKI, K. Y.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. Japan: *Journal of Experimental Botany*, 2005.

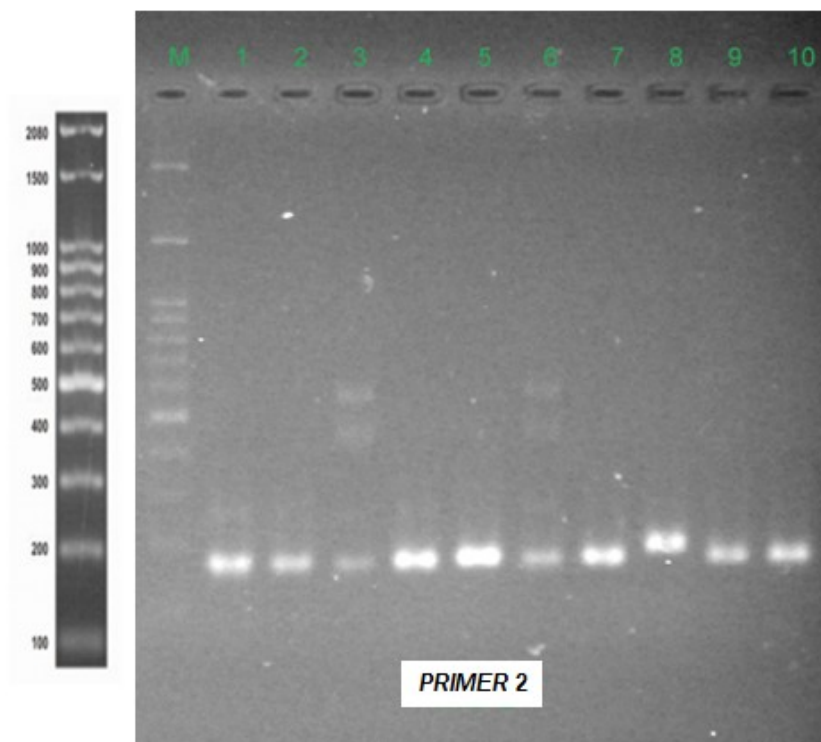
ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS

APENDICE A – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 1</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	82
APÊNDICE B – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 2</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	83
APÊNDICE C – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 3</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	84
APÊNDICE D – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 4</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	85
APÊNDICE E – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 5</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	86
APÊNDICE F – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 6</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	87
APÊNDICE G – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o <i>Primer 7</i> e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.....	88
APÊNDICE H – Tubos de ensaio com solução para análise do conteúdo de prolina em folhas de feijoeiro comum submetidos à deficiência hídrica: a coloração mais escura indica maior acúmulo de prolina.....	89
ANEXO 1 – Laudo da Análise do Solo utilizado para plantio de 10 genótipos de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) em casa de vegetação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2015.....	90

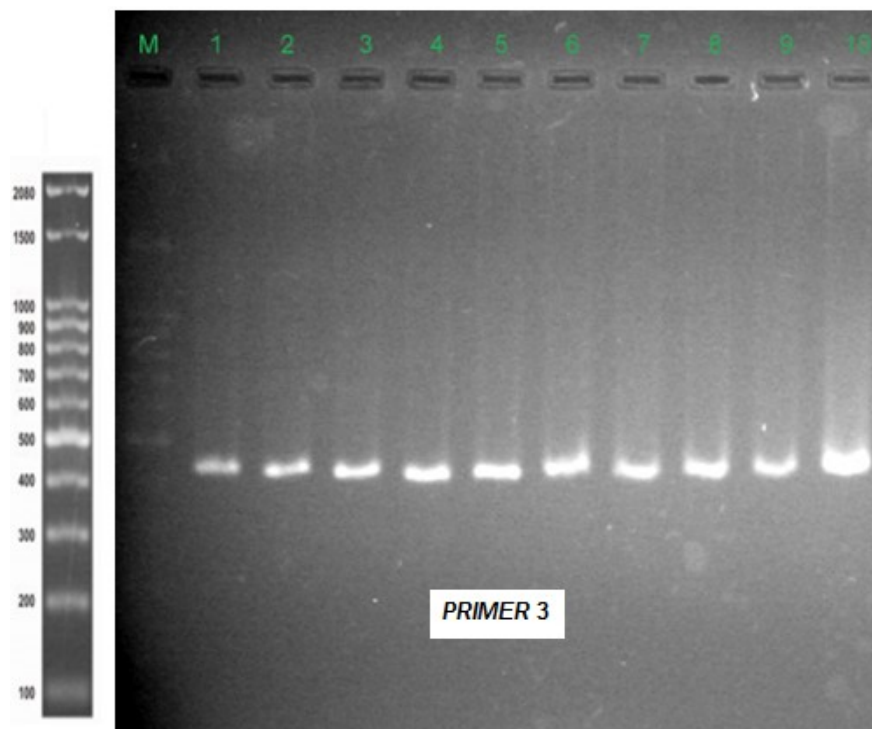
APÊNDICES E ANEXOS



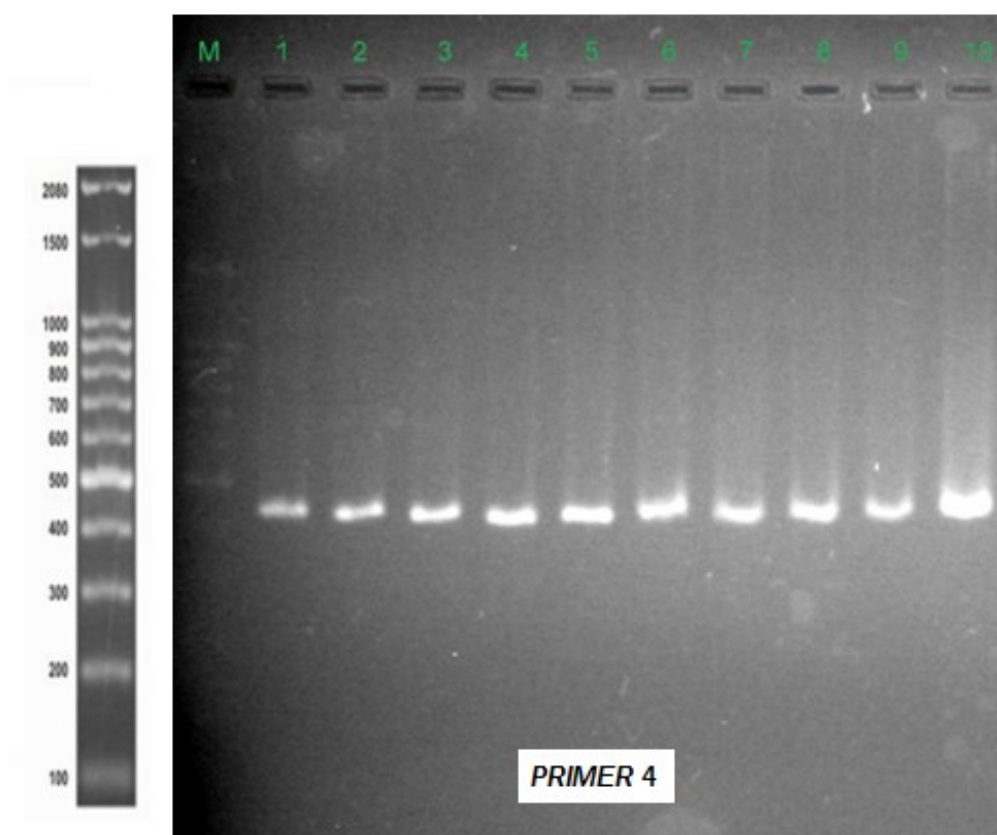
APÊNDICE A – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 1* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



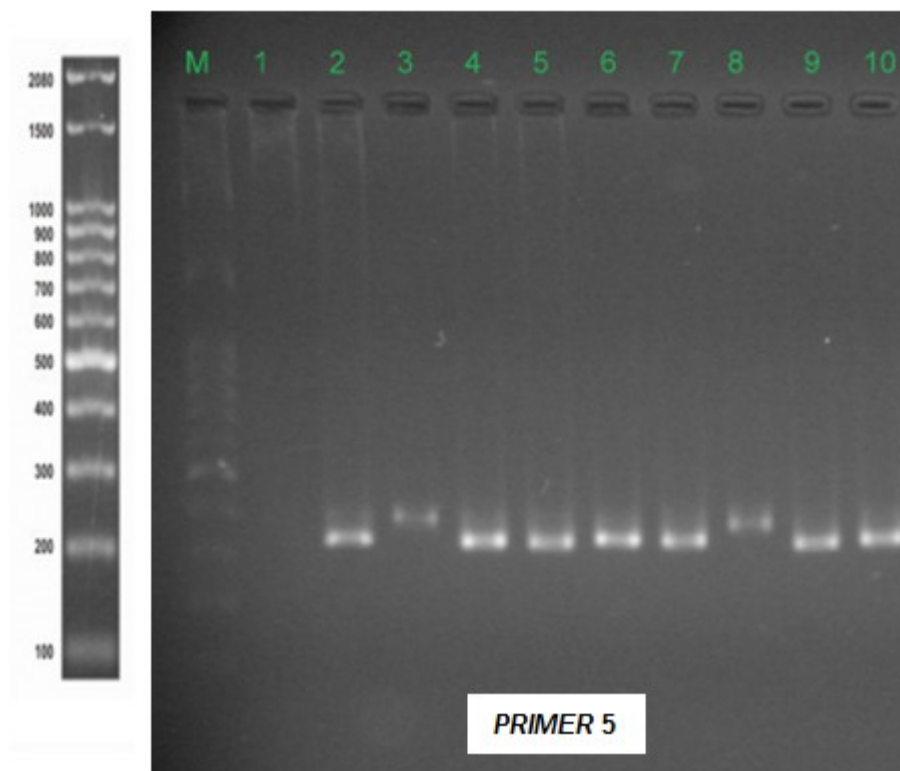
APÊNDICE B – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 2* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



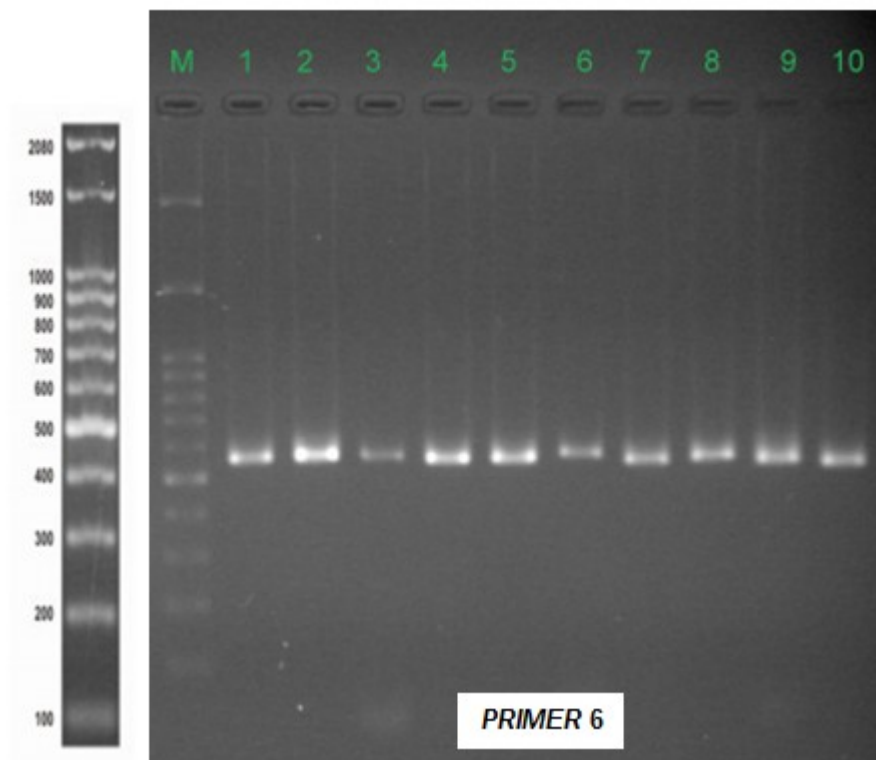
APÊNDICE C – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 3* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



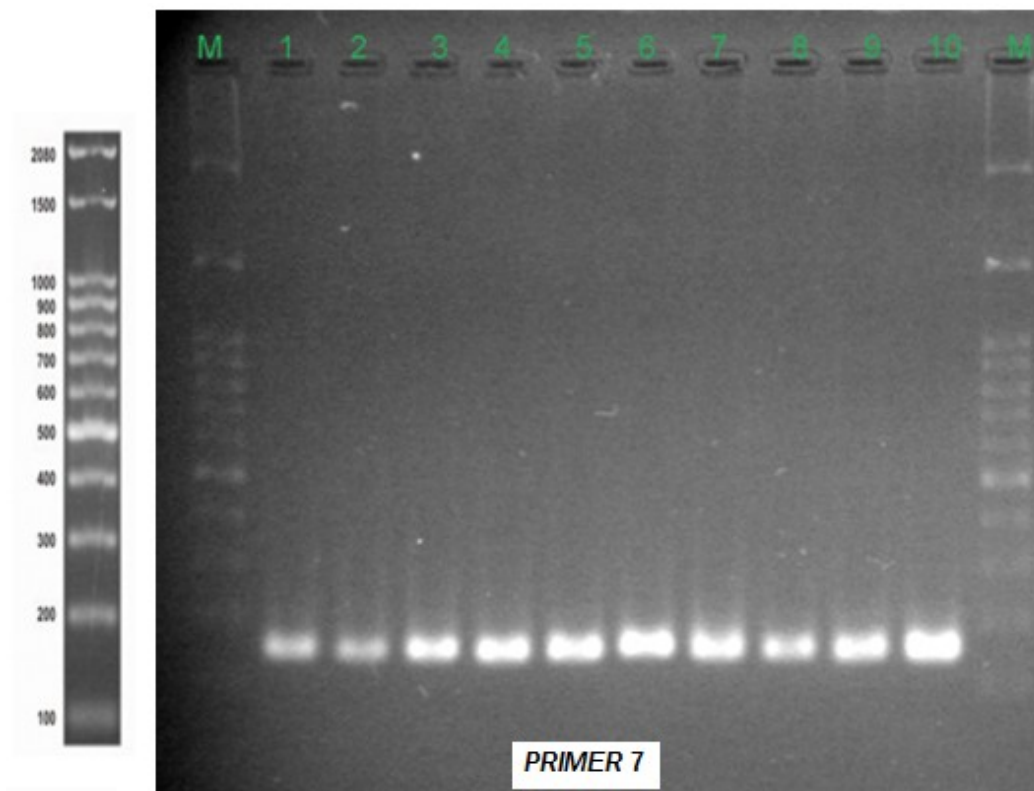
APÊNDICE D – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 4* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



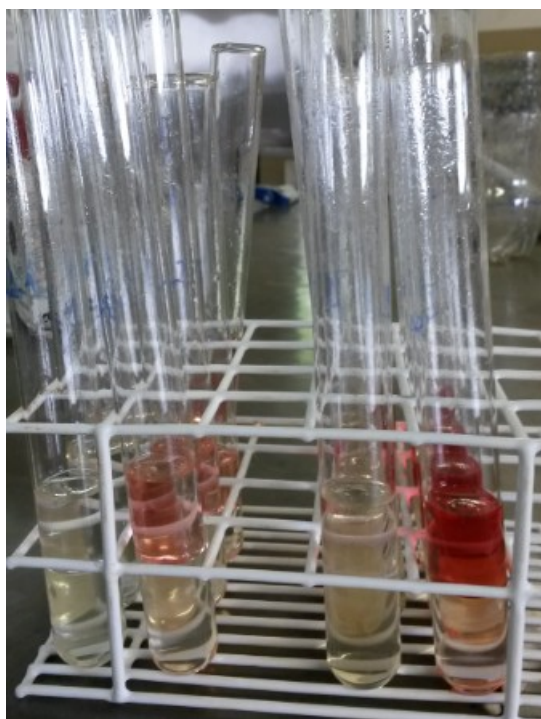
APÊNDICE E – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 5* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



APÊNDICE F – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 6* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



APÊNDICE G – Gel de agarose 2% visualizado sob luz ultravioleta contendo a sequência de bandas geradas a partir do produto da PCR com o *Primer 7* e o DNA de 10 genótipos de feijoeiro comum. M: marcador; 1: ANFC9; 2: BRSMG Realce; 3: IPR Uirapuru; 4: IPR Tuiuiu; 5: ANFP110; 6: IPR Tangará; 7: IAC Imperador; 8: IAC Milênio; 9: BRS Esplendor; 10: IPR Siriri.



APÊNDICE H – Tubos de ensaio com solução para análise do conteúdo de prolina em folhas de feijoeiro comum submetidos à deficiência hídrica: a coloração mais escura indica maior acúmulo de prolina.

Laudo de Análise de Solo

Solicitante : Cristiane Dipp	Laudo : 6705	Amostra: 789
Endereço:	Data: 03/08/2015	
Propriedade: UTFPR - Pato Branco - PR		
Talhão: 1 - area experimental	Profundidade: 0 a 20 cm	
Técnico:	Nº Matrícula: 0	

Alto								
Médio								
Baixo								
Resultados	24,12	42,59	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60
	MO gdm ⁻³	P mgdm ⁻³	K cmol _c dm ⁻³	Cu mgdm ⁻³	Fe mgdm ⁻³	Zn mgdm ⁻³	Mn mgdm ⁻³	pH CaCl ₂

OBS: K(mgdm³): 215,05

Alto								
Médio								
Baixo								
Resultados	5,20	0,20	9,00	2,60	1,30	4,45	33,09	4,30
	Índice SMP	Al ³⁺ cmol _c dm ⁻³	H+Al cmol _c dm ⁻³	Ca cmol _c dm ⁻³	Mg cmol _c dm ⁻³	SB cmol _c dm ⁻³	V (%)	Sat. Al (%)

Metodologias: M.O. por digestão úmida; P,K,Cu,Fe,Zn e Mn extraídos com solução de Mehlich - I; pH em₂Ca.Cl 1:2,5
Ca, Mg e Al trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹

Análise Granulométrica		
Argila (%): 50,10	Areia (%): 34,70	Silte (%): 15,20

Esse solo é classificado como do tipo 3, de acordo com instrução normativa número 2, de 09 de Outubro de 2008, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Porcentagem dos valores em relação ao CTC

Valor do CTC = 13,45

K : 4,09 %
Mg : 9,67 %
Ca : 19,33 %
H+Al : 66,91 %



Laboratório de Análises de Solos UTFPR/IAPAR, Via do Conhecimento, Km 01, CEP 85503-390, Pato Branco-PR

Anexo 1 – Laudo da Análise do Solo utilizado para plantio de 10 genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em casa de vegetação. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2015.