

GUILHERME FONTES VALORY GAMA

**FENOTIPAGEM DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
MECANISMOS DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO NA FASE DE
GERMINAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Laércio Junio da Silva

Coorientadores: Denise Cunha F. dos Santos Dias
José Eustáquio de Souza Carneiro

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

G184f
2023
Gama, Guilherme Fontes Valory, 1993-
Fenotipagem de genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)
e mecanismos de tolerância ao déficit hídrico na fase de
germinação / Guilherme Fontes Valory Gama. – Viçosa, MG,
2023.

1 tese eletrônica (82 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Laércio Junio da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.432>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Feijão - Resistência à seca. 2. Mapeamento genômico
vegetal. I. Silva, Laércio Junio da, 1984-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 581.754

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317

GUILHERME FONTES VALORY GAMA

**FENOTIPAGEM DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
MECANISMOS DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO NA FASE DE
GERMINAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de abril de 2023

Assentimento:



Documento assinado digitalmente
GUILHERME FONTES VALORY GAMA
Data: 14/07/2023 16:04:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Guilherme Fontes Valory Gama
Autor



Documento assinado digitalmente
LAERCIO JUNIO DA SILVA
Data: 15/07/2023 05:54:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Laércio Junio da Silva
Orientador

A minha namorada Maria Raquel, por todo amor

DEDICO

Aos meus pais, Écio e Aparecida, meus exemplos de vida, e a minha irmã Daniella, pelo amor

incondicional

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a força.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Agronomia, pela oportunidade de fazer o curso.

Ao meu orientador Prof. Laércio Junio da Silva (DAA/UFV), pela amizade, atenção e empenho dedicado.

Aos meus coorientadores Profa. Denise C. F. dos S. Dias (DAA/UFV) e Prof. José Eustáquio Carneiro (DAA/UFV), pela orientação, apoio, confiança e todo o suporte na elaboração deste trabalho.

Aos amigos do Grupo de Estudos em Sementes (GSEM), pela amizade e ajuda no dia a dia.

Aos técnicos de laboratório José Custódio da Silva e Wander Douglas Pereira, por toda a ajuda.

Ao amigo de pós-graduação Daniel Teixeira Pinheiro, por toda amizade, parcerias e incentivos durante o mestrado e doutorado.

Aos meus pais Écio Valory Gama e Aparecida Fontes Valory, pelo amor e incentivo.

À minha irmã Daniella Fontes Valory Gama, pela amizade e apoio nos momentos de dificuldade.

À minha namorada Maria Raquel Varino Sá Gomes pelo apoio, paciência e amor durante essa caminhada.

A todos os familiares pelo constante apoio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação.

Muito Obrigado!

RESUMO

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2023. **Fenotipagem de genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e mecanismos de tolerância ao déficit hídrico na fase de germinação.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias e José Eustáquio de Souza Carneiro.

A produção de alimentos atualmente é ameaçada pelas mudanças climáticas que a cada dia potencializam episódios de seca em diversas regiões agrícolas do mundo. O futuro dos cultivos de diversas culturas em sistema de sequeiro, assim como o feijão comum dependem da busca por genótipos mais tolerantes a seca. O objetivo do trabalho foi identificar variabilidade para tolerância ao déficit hídrico em germoplasma de feijão comum nas fases de germinação e crescimento de plântulas; e investigar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na resposta diferencial em plântulas de genótipos de feijão comum contrastantes para tolerância a seca. Sementes de 33 genótipos de feijão comum com potencial fisiológico semelhante foram submetidas ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento de plântulas. Os genótipos BAT477 e CAR80 foram utilizados como tolerante e sensível ao estresse por déficit hídrico, respectivamente. O déficit hídrico foi imposto por meio do uso de polietilenoglicol (PEG) 6000 no potencial de -0,3 MPa. Com base nas avaliações de germinação, crescimento de plântulas e análises do sistema radicular das plântulas, os genótipos BAT477, G12C, G629 e G13D foram destacados com maior nível de tolerância ao déficit hídrico e CAR80 e G11C com menor nível de tolerância. Esses genótipos foram avaliados quanto ao potencial fisiológico (germinação, primeira contagem de germinação e crescimento de plântulas), atividade enzimática (enzimas SOD, CAT, POX, APX) e conteúdo de prolina sob deficiência hídrica durante a germinação e crescimento inicial das plântulas. A análise fisiológica apontou maior desempenho germinativo para BAT477 e G13D sob déficit hídrico. Genótipos com maior desempenho sob déficit hídrico apresentam como estratégia de tolerância ao estresse sistema radicular mais profundo e proliferativo, maior atividade de enzimas do sistema antioxidante e maior conteúdo de prolina. Os genótipos mostraram diferentes estratégias para tolerância ao déficit hídrico, enquanto BAT477 aumenta a atividade da CAT, G12C investe em maior atividade da APX.

Palavras-chave: Sistema radicular. Sementes. Qualidade fisiológica. Enzimas antioxidantes

ABSTRACT

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2023. **Phenotyping of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes and mechanisms of tolerance to water deficit in the germination phase.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias and José Eustáquio de Souza Carneiro.

Food production is currently threatened by climate change that every day potentiates episodes of drought in various agricultural regions of the world. The future of the cultivation of several agricultural crops in rainfed systems, as well as the common bean, depends on the search for more drought tolerant genotypes. The objective of this work was to identify variability for tolerance to water deficit in common bean germplasm in the germination and seedling growth stages; and to investigate the physiological and biochemical mechanisms involved in the differential response in plants of contrasting common bean genotypes for drought tolerance. Seeds of 33 common bean genotypes with similar physiological potential were maintained in water deficit during germination and seedling growth. The BAT477 and CAR80 genotypes were used as tolerant and sensitive to water deficit stress, respectively. Water deficit was imposed using polyethylene glycol (PEG) 6000 at a potential of -0.3 MPa. Based on germination potential, seedling growth and analysis of the root system of seedlings, genotypes BAT477, G12C, G629 and G13D were highlighted with the highest level of tolerance to water deficit and CAR80 and G11C with the lowest level of tolerance. These genotypes were evaluated for their physiological (germination, first count of germination and seedling growth), enzymatic activity (SOD, CAT, POX, APX) and proline content under water deficit during germination and initial seedling growth. The physiological analysis showed better germination performance for BAT477 and G13D under water deficit. Genotypes with better performance under water deficit presented a deeper and more proliferative root system, higher enzyme activity of the antioxidant system and higher proline content. The genotypes showed different strategies for tolerance to water deficit, while BAT477 increases CAT activity, G12C invests in greater APX activity.

Keywords: Root system. Seeds. Physiological quality. Antioxidant enzymes

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	9
REFERÊNCIAS	12
Capítulo 1: Caracterização morfo-fisiológica de genótipos de feijão comum para tolerância a seca durante a germinação e crescimento de plântulas.....	15
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1 Agrupamento de genótipos em função da qualidade fisiológica das sementes	22
2.1.1 Germinação, primeira contagem de germinação e T50.....	22
2.1.2 Condutividade elétrica.....	23
2.1.3 Envelhecimento acelerado.....	23
2.1.4 Análise digital do comprimento de plântulas (ImageJ®).....	23
2.1.5 Matéria seca de parte aérea e raiz de plântulas.....	24
2.1.6 Agrupamento K-means.....	24
2.2 Caracterização fisiológica e fenotipagem radicular para tolerância a seca.....	24
2.2.1 Germinação e primeira contagem de germinação	24
2.2.2 Análise digital do comprimento de plântulas (ImageJ®).....	25
2.2.3 Avaliação de caracteres radiculares.....	25
2.2.4 Matéria seca de parte aérea e raiz.....	25
2.3 Delineamento experimental e análise estatística.....	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1 Agrupamento de genótipos em função da qualidade fisiológica das sementes	27
3.2 Triagem de genótipos de feijão comum para a tolerância a seca.....	29
4 CONCLUSÕES.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
Capítulo 2: Características morfo-fisiológicas e bioquímicas relacionadas a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial em genótipos de feijoeiro comum.....	54
RESUMO	55
ABSTRACT	56
1 INTRODUÇÃO	57
2 MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1 Germinação e crescimento de plântulas de feijão sob déficit hídrico.....	59

2.1.1	Germinação e primeira contagem de germinação	59
2.1.2	Comprimento de parte aérea e raiz	60
2.1.3	Matéria seca de parte aérea e raiz	60
2.2	Atividade de enzimas antioxidantes e conteúdo de prolina	60
2.2.1	Extração e determinação da atividade enzimática	60
2.2.2	Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).....	61
2.2.3	Determinação da atividade da enzima catalase (CAT).....	61
2.2.4	Determinação da atividade da enzima peroxidase (POX).....	61
2.2.5	Determinação da atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX).....	61
2.2.6	Proteínas totais.....	62
2.2.7	Conteúdo de Prolina	62
2.3	Delineamento experimental e análise estatística.....	63
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4	CONCLUSÕES.....	76
	REFERÊNCIAS	77

INTRODUÇÃO GERAL

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é considerado a leguminosa de maior importância para o consumo humano direto no mundo (Gonçalves et al., 2015). O Brasil encontra-se entre os maiores produtores e consumidores mundiais dessa cultura, sendo produzidas na safra de 2021/22 cerca de 2,9 milhões de toneladas, com área colhida de 2,6 milhões de hectares (FAOSTAT, 2023). Grande parte da sua importância se deve às propriedades alimentares, proporcionadas principalmente pelos seus grãos, que são fonte de minerais, proteínas, carboidratos e compostos bioativos como polifenóis, fitoesteróis e saponinas (Lomas-Soria et al., 2015; Xu e Chang, 2007). Desta forma, o feijão se faz presente em diversos sistemas de produção, que vão desde pequenos a grandes produtores localizados em diversas regiões brasileiras (Melo et al., 2017).

O cultivo do feijoeiro em condições de sequeiro é comum, principalmente em regiões da América Latina, o que consiste em um fator às vezes complicador para o crescimento, desenvolvimento e produção da cultura, sendo que a possibilidade de deficiência hídrica é quase sempre inevitável (Gonçalves et al., 2015; Rosales et al., 2012). No Brasil, podemos observar três épocas distintas de cultivo, o feijão das secas, de inverno e das águas, dos quais apenas o feijão de inverno é produzido com auxílio de irrigação (Lanna et al., 2018). Atualmente a potencialidade de ocorrência de déficit hídrico em sistemas de sequeiro aumenta com as variações climáticas atuais, que contam com instabilidade de precipitações e aumento de temperatura em importantes áreas de produção agrícola mundial (Gonçalves et al., 2015).

Os estádios de germinação e crescimento inicial de plântulas são de essencial importância para a propagação das culturas em seu ambiente de crescimento (Biju et al., 2017). A deficiência hídrica em momentos iniciais reduz a germinação e o crescimento das plântulas, o que afeta a emergência e o estabelecimento das lavouras.

O efeito drástico da deficiência hídrica para a germinação e crescimento de plântulas já foi relatado para diversas leguminosas. Em estudo com lentilha, Muscolo et al. (2014) observaram diminuição na porcentagem de germinação das sementes, no comprimento de raiz das plântulas, aumento no conteúdo do aminoácido prolina e de açúcares livres totais. Além disso, foi observada diminuição na atividade das enzimas hidrolíticas atuantes no processo de germinação. Machado et al. (2016) concluíram em estudo com três cultivares de soja, que a redução do potencial osmótico reduz a germinação e o crescimento de plântulas de forma diferenciada para cada cultivar, e estes parâmetros estão condicionados a qualidade inicial do lote de sementes utilizado.

Em meio à potencialização de estresse abióticos, diversas pesquisas no âmbito do melhoramento genético de feijão vêm sendo realizadas com intuito de identificar genótipos com maior tolerância à deficiência hídrica. Pesquisas que buscam genótipos com ciclo mais curto, melhor arquitetura de raiz visando maior absorção de água, adaptações estomáticas, sem deixar de lado elevada produtividade em condições de estresse (Blair et al., 2012; Gonçalves et al., 2015). Por outro lado, poucos esforços se concentram em identificar genótipos de feijão comum mais tolerantes a deficiência hídrica em momentos iniciais do ciclo da cultura, como a germinação e crescimento inicial de plântulas. De acordo com Muscolo et al. (2014), a garantia de sucesso de estabelecimento de uma cultura em regiões com histórico de deficiência hídrica é diretamente dependente da germinação rápida e uniforme das sementes.

Os prejuízos da deficiência hídrica para a germinação e crescimento das plântulas também estão relacionados, além de outros fatores, ao estresse oxidativo gerado pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Khadraji et al., 2017). Estas se apresentam normalmente em quatro formas nas células, sendo elas o radical hidroxila (OH^\bullet), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), produzidos principalmente nos cloroplastos, peroxissomos, mitocôndrias, apoplasto e membranas plasmáticas (Ullah et al. 2018; Singh et al., 2019). As EROs são geradas pela redução incompleta do oxigênio e são extremamente prejudiciais aos diferentes componentes celulares, com capacidade de provocar danos em lipídios, proteínas, ácidos nucleicos (Ilyas et al., 2021) e levar a morte celular (Fang et al., 2015a).

Para lidar com os prejuízos do estresse oxidativo, as plantas contam com mecanismos de defesa antioxidantes de natureza e não enzimática (Ismail et al., 2014). Dentre o aparato enzimático estão inclusas, além de outras, as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidases (POX) (Mahmood et al., 2020).

A SOD atua como a primeira linha de defesa contra as EROs, que ao dismutar o $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e O_2 , diminui a possibilidade de formação do OH^\bullet (Gill et al., 2015). O H_2O_2 formado pela ação da SOD pode então ser convertido em H_2O pela ação das demais enzimas, CAT, APX e POX (Hasanuzzaman et al., 2020). Além disso, é considerada componente chave para a eliminação de EROs e diminuição dos efeitos do estresse oxidativo causados pela deficiência hídrica (Laxa et al., 2019).

A CAT e a SOD são consideradas as duas enzimas de maior importância para tolerância das plantas a estresses abióticos (Kacienė et al., 2015). Localizada nos peroxissomos, a CAT atua na remoção do H_2O_2 gerado na fotorrespiração e via β -oxidação de ácido graxos, convertendo-o em H_2O e O_2 (Gill e Tuteja, 2010; Dumanović et al., 2020).

A APX apresenta diferentes isoformas nas células vegetais e está distribuída em diversos compartimentos celulares, como citosol, mitocôndria, peroxissomo e cloroplasto (Anjum et al., 2016). Essa enzima atua na homeostase redox reduzindo o H_2O_2 em H_2O , porém, diferentemente da CAT, participa do ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH) e utiliza o ascorbato como doador de elétron para tal função (Hasanuzzaman et al., 2019). O ciclo AsA-GSH é um importante mecanismo de manutenção do estado redox nas células, e conta com antioxidantes fortes como ascorbato, glutaciona e enzimas como a APX que contribuem para tolerância ao estresse em plantas (Szarka et al., 2012).

Assim como a APX, a POX tem seu papel antioxidante baseado na eliminação do H_2O_2 . As peroxidases reduzem o H_2O_2 tóxico para as células a H_2O , e utiliza para isso diversos metabolitos secundários como doadores de elétrons (Shigeto e Tsutsumi, 2016). O papel antioxidante da POX e sua contribuição para tolerância a seca é discutido em diversos estudos, que incluem essa família de enzimas como uma das principais vias de eliminação do excesso de EROs sob estresse (Laxa et al., 2019; Hasanuzzaman et al., 2020).

Por outro lado, existe o mecanismo de defesa não enzimático, que consiste na síntese de compostos de baixo peso molecular como, glutaciona, ascorbato, α -tocoferol, carotenoides, dentre outros (Hussain et al., 2016). Além destes, a prolina é um aminoácido com função osmoprotetora que pode ser considerada um antioxidante importante para mitigar os efeitos tóxicos das EROs (Gill e Tuteja, 2010). Além disso, é responsável por conferir tolerância ao déficit hídrico por meio do mecanismo de ajustamento osmótico e assim se acumula em resposta a escassez de água (Rohman et al., 2020).

É fato o intenso prejuízo da deficiência hídrica para os processos de germinação e emergência de plântulas. Para o feijão comum, a falta de água nos estádios iniciais de desenvolvimento é comum, levando a perdas de estande e redução na produtividade final. Dessa forma, existe a necessidade de se encontrar genótipos de feijoeiro com maior tolerância a deficiência hídrica em fases iniciais do ciclo da cultura. Uma eficiente maneira de se identificar genótipos tolerantes, seria por meio da triagem inicial, de forma que os genótipos selecionados podem ser utilizados como pais em cruzamentos iniciais dentro de programas de melhoramento genético. Além disso, a investigação dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvendo o metabolismo de enzimas antioxidantes e o acúmulo de osmoprotetores como a prolina, podem contribuir para a elucidação dos mecanismos de tolerância a seca desta espécie. Pesquisas desta natureza também podem auxiliar estudos que visam encontrar QTLs ligados à tolerância a seca e o desenvolvimento de marcadores moleculares (Wu et al., 2022).

REFERÊNCIAS

- ANJUM, N.A.; SHARMA, P.; GILL, S.S.; HASANUZZAMAN, M.; KHAN, E.A.; KACHHAP, K.; MOHAMED, A.A.; THANGAVEL, P.; DEVI, G.D.; VASUDHEVAN, P.; SOFO, A.; KHAN, N.A.; MISRA, A.N.; LUKATKIN, A.S.; SINGH, P.H.; PEREIRA E.; TUTEJA, N. Catalase and ascorbate peroxidase representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. **Environmental science and pollution research**, v.23, n.19, p.19002-19029, 2016.
- BIJU, S.; FUENTES, S.; GUPTA, D. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system. **Plant physiology and biochemistry**, v.119, p.250-264, 2017.
- BLAIR, M.W.; GALEANO, C.H.; TOVAR, E.; MUÑOZ TORRES, M.C.; CASTRILLÓN, A.V.; BEEBE, S.E.; RAO, I.M. Development of a Mesoamerican intra-genepool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant× susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Molecular Breeding**, v.29, n.1, p.71-88, 2012.
- DUMANOVIĆ, J.; NEPOVIMOVA, E.; NATIĆ, M.; KUČA, K.; JAČEVIĆ, V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. **Frontiers in plant science**, v.11, 2020.
- FANG, Y.; LIAO, K.; DU, H.; XU, Y.; SONG, H.; LI, X.; XIONG, L. A stress-responsive NAC transcription factor SNAC3 confers heat and drought tolerance through modulation of reactive oxygen species in rice. **Journal of experimental botany**, v.66, n.21, p.6803-6817, 2015a.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops and livestock products, 2021. Disponível In: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em 08 maio de 2023.
- GILL, S.S.; ANJUM, N.A.; GILL, R.; YADAV, S.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M.; MISHRA, P.; SABAT, S.C.; TUTEJA, N. Superoxide dismutase mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, n.14, p.10375-10394, 2015.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v.48, n.12, p.909-930, 2010.
- GONÇALVES, J.G.R.; CHIORATO, A.F.; SILVA, D.A.D.; ESTEVES, J.A.D.F.; BOSETTI, F.; CARBONELL, S.A.M. Análise da capacidade combinatória em feijoeiro comum submetido ao déficit hídrico. **Bragantia**, v.74, n.2, p.149-155, 2015.
- HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M.H.M.; ZULFIQAR, F.; RAZA, A.; MOHSIN, S.M.; MAHMUD, J.A.; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v.9, n.8, p.681, 2020.
- HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M.H.M.B.; ANEE, T.I.; PARVIN, K.; NAHAR, K.; MAHMUD, J.A.; FUJITA, M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants**, v.8, n.9, p.384, 2019.

HUSSAIN, T.; TAN, B.; YIN, Y.; BLACHIER, F.; TOSSOU, M. C.; RAHU, N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v.2016, 2016.

ILYAS, M.; NISAR, M.; KHAN, N.; HAZRAT, A.; KHAN, A.H.; HAYAT, K.; FAHAD, S.; KHAN, A.; ULLAH, A. Drought tolerance strategies in plants: A mechanistic approach. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.40, n.3, p.926-944, 2021.

ISMAIL, A.; TAKEDA, S.; NICK, P. Life and death under salt stress: same players, different timing?. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 12, p. 2963-2979, 2014.

KACIENĖ, G.; MILČĚ, J.Ž.E.; JUKNYS, R. Role of oxidative stress on growth responses of spring barley exposed to different environmental stressors. **Journal of Plant Ecology**, v.8, n.6, p.605-616, 2015.

KHADRAJI, A.; MOURADI, M.; HOUASLI, C.; QADDOURY, A.; GHOULAM, C. Growth and antioxidant responses during early growth of winter and spring chickpea (*Cicer arietinum*) under water deficit as affected by osmopriming. **Seed Science and Technology**, v.45, n.1, p.198-211, 2017.

LANNA, A.C.; SILVA, R.A.; FERRARESI, T.M.; MENDONÇA, J.A.; COELHO, G.R.C.; MOREIRA, A.S.; VALDISSER P.A.M.R.; BRONDANI C.; VIANELLO, R.P. Physiological characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under abiotic stresses for breeding purposes. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, n.31, p.31149-31164, 2018.

LAXA, M.; LIEBTHAL, M.; TELMAN, W.; CHIBANI, K.; DIETZ, K.J. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants**, v.8, n.4, p.94, 2019.

LOMAS-SORIA, C.; PÉREZ-RAMÍREZ, I.F.; CABALLERO-PÉREZ, J.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; GUEVARA-OLVERA, L.; LOARCA-PIÑA, G.; REYNOSO-CAMACHO, R. Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) modulate renal genes in streptozotocin-induced diabetic rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, v.26, n.7, p.761-768, 2015.

MACHADO, B.Q.V.; REZENDE, G.F.; SÁ JÚNIOR, A.; MELO MUNDIM, F.; HAMAWAKI, O.T.; SOUSA, L.B. Germinação de Cultivares de Soja Submetidas ao Déficit Hídrico induzido por Polietilenoglicol. **Cultura Agronômica: Revista de Ciências Agronômicas**, v.25, n.2, p.137-146, 2016.

MAHMOOD, T.; KHALID, S.; ABDULLAH, M.; AHMED, Z.; SHAH, M.K.N.; GHAFOR, A.; DU, X. Insights into drought stress signaling in plants and the molecular genetic basis of cotton drought tolerance. **Cells**, v.9, n.1, p.105, 2020.

MELO, L.C.; PEREIRA, H.S.; FARIA, L.C.; SOUZA, T.L.P.O.; WENDLAND, A.; CABRERA DIAZ, J.L.; CARVALHO, H.W.L.; MELO, C.L.P.; COSTA, A.F.; MAGALDI, M.C.S.; COSTA, J.G.C. BRS FC402: high-yielding common bean cultivar with carioca grain, resistance to anthracnose and fusarium wilt. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17, p.67-71, 2017.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; ANASTASI, U.; SANTONOCETO, C.; MAGGIO, A. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.354-363, 2014.

- ROHMAN, M.M.; MOLLA, M.R.; AKHI, A.H.; ALAM, S.S.; HANNAN, A.; HASANUZZAMAN, M. Use of Osmolytes for Improving Abiotic Stress Tolerance in Fabaceae Plants. In: **The Plant Family Fabaceae**. Springer, Singapore, 2020. p. 181-222.
- ROSALES, M.A.; OCAMPO, E.; RODRÍGUEZ-VALENTÍN, R.; OLVERA-CARRILLO, Y.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; COVARRUBIAS, A.A. Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance. **Plant physiology and biochemistry**, v.56, p.24-34, 2012.
- SHIGETO, J.; TSUTSUMI, Y. Diverse functions and reactions of class III peroxidases. **New Phytologist**, v.209, n.4, p.1395-1402, 2016.
- SINGH, A.; KUMAR, A.; YADAV, S.; SINGH, I.K. Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. **Plant Gene**, v.18, p.100173, 2019.
- SZARKA, A.; TOMASSKOVICS, B.; BÁNHEGYI, G. The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, n.4, p.4458-4483, 2012.
- ULLAH, A.; MANGHWAR, H.; SHABAN, M.; KHAN, A.H.; AKBAR, A.; ALI, U.; ALI, E.; FAHAD, S. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, n.33, p.33103-33118, 2018.
- WU, L.; CHANG, Y.; WANG, L.; JI, L.; PENG, L.; WANG, S.; WU, J. Genetic dissection of yield-related traits in response to drought stress in common bean. **The Crop Journal**, 2022.
- XU, B. J.; CHANG, S. K. C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of food science**, v.72, n.2, p.S159-S166, 2007.

GUILHERME FONTES VALORY GAMA

Capítulo 1: Caracterização morfo-fisiológica de genótipos de feijão comum para tolerância a seca durante a germinação e crescimento de plântulas

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

RESUMO

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2023. **Caracterização morfo-fisiológica de genótipos de feijão comum para tolerância a seca durante a germinação e crescimento de plântulas.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias e José Eustáquio de Souza Carneiro.

Em diversas regiões do Brasil, o feijão comum é cultivado em condições de sequeiro. No atual cenário de mudanças climáticas, com instabilidade na ocorrência de precipitações, aumenta os impactos da deficiência hídrica na cultura. O estabelecimento das plantas no campo é altamente sensível à seca nas fases de germinação e crescimento de plântulas, o que prejudica a formação do estande e reduz a produtividade. Neste sentido, há necessidade de desenvolver cultivares mais tolerantes à seca nas fases iniciais do ciclo da cultura. O objetivo com o estudo foi avaliar a variabilidade em germoplasma de feijão comum para tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento de plântulas e definir as principais características relacionadas com o maior nível de tolerância dos genótipos. Sementes de 33 genótipos de feijão comum, previamente caracterizadas quanto à qualidade fisiológica, foram submetidas ao déficit hídrico durante a germinação, utilizando-se solução de polietilenoglicol (PEG) 6000 no potencial osmótico de -0,3 MPa. O controle consistiu na utilização de água destilada. Foram avaliadas variáveis relacionadas à germinação, velocidade de germinação, crescimento e características da arquitetura do sistema radicular das plântulas. As médias dos genótipos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Análise multivariada de componentes principais (PCA) e dendrograma baseado na distância euclidiana foram utilizadas na análise do desempenho dos genótipos. Alta variabilidade entre os genótipos foi observada, sendo possível destacar quatro com maior nível de tolerância ao déficit hídrico (BAT477, G629, G13D e G12C) e dois com menor nível de tolerância (CAR80 e G11C). A tolerância a seca de BAT477 também foi comprovada durante fases iniciais do desenvolvimento. A avaliação do sistema radicular é eficaz para estudo de tolerância a seca em feijão comum. A variabilidade no germoplasma avaliado pode ser explorada por melhoristas de plantas em futuros cruzamentos.

Palavras-chave: Qualidade fisiológica. Déficit hídrico. Arquitetura de raiz

ABSTRACT

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2023. **Morpho-physiological characterization of common bean genotypes for drought tolerance during germination and seedling growth.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias and José Eustáquio de Souza Carneiro.

In several regions of Brazil, common bean is cultivated under rainfed conditions. In the current scenario of climate change, with instability in the occurrence of precipitation, the impacts of water deficit on the crop increase. The establishment of plants in the field is highly sensitive to drought in the germination and seedling growth phases, which impairs the formation of the stand and reduces productivity. In this sense, there is a need to develop cultivars that are more drought tolerant in the early stages of the crop cycle. The objective of the study was to evaluate the variability in common bean germplasm for tolerance to water deficit in the germination and seedling growth stages and to define the main characteristics related to the highest level of tolerance of the genotypes. Seeds of 33 common bean genotypes, previously characterized in terms of physiological quality, were subjected to water deficit during germination, using a polyethylene glycol (PEG) 6000 solution at an osmotic potential of -0.3 MPa. The control consisted of using distilled water. Variables related to germination, germination speed, growth and architectural characteristics of the seedling root system were evaluated. Means of genotypes were grouped using the Scott-Knott test ($P < 0.05$). Multivariate principal component analysis (PCA) and dendrogram based on Euclidean distance were used to analyze the performance of the genotypes. High variability between genotypes was observed, being possible to highlight four with a higher level of tolerance to water deficit (BAT477, G629, G13D and G12C) and two with a lower level of tolerance (CAR80 and G11C). The drought tolerance of BAT477 was also proven during early stages of development. The evaluation of the root system is effective for the study of drought tolerance in common bean. The variability in the evaluated germplasm can be exploited by plant breeders in future crosses.

Keyword: Physiological quality. Water deficit. Root architecture

1 INTRODUÇÃO

A escassez hídrica pode ser prejudicial principalmente em fases iniciais do ciclo dos vegetais, como a germinação e o crescimento de plântulas, sendo considerados períodos críticos. A deficiência hídrica durante os estádios iniciais prejudica a emergência em campo por provocar redução da população de plantas, o que reduz o rendimento final de grãos (Farooq et al., 2012).

Durante a germinação, a água possui papel indispensável, pois é capaz de reativar o metabolismo das sementes e está envolvida direta e indiretamente em todas as demais etapas do processo. A deficiência hídrica reduz a germinação, por afetar diversos processos bioquímicos e fisiológicos que culminam com o crescimento da radícula (Silva et al., 2016), além de desencadear mudanças intracelulares degenerativas, como desnaturação proteica, instabilidade de membranas celulares, que em última instância geram anormalidades e danos nas futuras plântulas (Pereira et al., 2012). Além da germinação, a deficiência hídrica afeta o crescimento das plântulas (Machado et al., 2017). Sob tais condições, os componentes do crescimento vegetal, como a divisão e a expansão celular são primariamente reduzidos em razão da menor atividade enzimática, diminuições na pressão de turgor e no fornecimento de energia (Taiz e Zeiger, 2017). Assim, o crescimento dos órgãos vegetativos das plantas como a parte aérea e o sistema radicular serão reduzidos, o que afeta conseqüentemente a emergência em campo.

Além de ser considerada fase crítica do desenvolvimento das plantas sob escassez de água, a seleção de genótipos para tolerância a seca durante a germinação e crescimento de plântulas possui diversas vantagens, como facilidade de execução, menor utilização de recursos, tempo e espaço. Isso permite a avaliação de inúmeros genótipos em menor tempo, e pode ser vantajoso para o melhoramento de plantas em comparação com ensaios de campo. Ademais, a seleção de genótipos em fases iniciais do desenvolvimento pode utilizar como base a análise do sistema radicular sem a utilização de solo, como rolos de papel e outras metodologias amplamente utilizadas para a observação de raízes (Wasaya et al., 2018). Uma vez que a mensuração do sistema radicular das plantas em condições de campo é extremamente difícil (Fenta et al., 2014; Sharma et al., 2016), a utilização de outros meios de crescimento se torna alternativa para a utilização dos melhoristas de plantas.

As plantas expressam diferentes respostas ao déficit hídrico, que podem se apresentar em níveis fisiológicos, bioquímicos, moleculares e morfológicos (Khan et al., 2019). Dentre estas, as respostas morfológicas são de grande importância para as plantas sob escassez hídrica,

principalmente as relacionadas ao sistema radicular. De acordo com Ye et al. (2018), a forma e o espaço físico das raízes são definidos como a arquitetura do sistema radicular. Tais características são influenciadas por diversos fatores, como temperatura, nutrientes, pH do solo (Robbins e Dinneney, 2015) e pelo déficit hídrico (Ye et al., 2018). Portanto, qualquer mudança no ambiente induz respostas que dependem da plasticidade do sistema radicular (Xu et al., 2015), e que são importantes para a adaptação das plantas e para a melhoria na eficiência do uso da água nos cultivos (Fenta et al., 2014).

A arquitetura do sistema radicular apresenta plasticidade e dinamismo frente ao ambiente em que as plantas se encontram, além de se relacionar com a produtividade agrícola em condições de estresse (Zhu et al., 2011). Para a cultura do feijão, a participação do sistema radicular na tolerância a seca já é bem esclarecida (Prince et al., 2013), principalmente quanto a estratégia de evitar o estresse em função do enraizamento mais profundo (Ho et al., 2005). A fenotipagem dessas e outras características da arquitetura do sistema radicular possui grande contribuição para o melhoramento de plantas. Isso pode ser feito na atualidade via análise de imagens por meio de diversos softwares, sendo consideradas análises confiáveis e rápidas (Wasaya et al., 2018).

A seleção precoce de genótipos de feijão comum para tolerância a deficiência de água pode ser uma importante estratégia para o melhoramento genético da cultura. Uma das metodologias mais eficiente e utilizada para a seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico em fases iniciais, é a utilização do polietilenoglicol (PEG), que atua como indutor de potencial osmótico reduzido (Jabbari et al., 2013) e é amplamente empregado em estudos *in vitro*. Hellal et al. (2018) esclarecem que a utilização de materiais osmóticos, como o PEG, é uma das formas mais adequadas de estabelecer o potencial osmótico de interesse e estudar os efeitos da deficiência hídrica sobre a germinação. Este método foi utilizado de forma eficiente na identificação de genótipos com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico em culturas como milho (Ruta et al., 2010), trigo (Giroto et al., 2012), cevada (Hellal et al., 2018), dentre outras.

A eficiência do PEG para a triagem de genótipos também foi relatada para algumas leguminosas. Carvalho et al. (2019), com o objetivo de identificar tolerância ao déficit hídrico em uma população de feijão caupi, composta por 58 genótipos, obteve resposta satisfatória utilizando PEG 6000 para indução do estresse. Esses autores identificaram certos genótipos como potenciais pais para comporem cruzamentos iniciais em programas de melhoramento para tolerância ao déficit hídrico. Dharanguttikar et al. (2015) identificaram genótipos de grão-de-bico com características favoráveis para tolerância ao déficit hídrico induzido por PEG 6000,

em função da germinação, comprimento de plântulas e massa seca de plântulas. Jimenez-Galindo et al. (2018), identificaram genótipos de feijão Tepary (*Phaseolus acutifolius* A. Grey) e feijão comum tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação e o crescimento de plântulas, com base em características de raiz.

Outro fator significativo a ser considerado para a seleção de genótipos em fases primárias do desenvolvimento, é a qualidade fisiológica das sementes. Uma vez que sementes de baixo vigor se mostram mais sensíveis a estresses ambientais, para seleção eficiente é imprescindível considerar este fator. Segundo Perry (1972), o vigor de sementes é a capacidade da mesma em proporcionar emergência rápida e uniforme das plântulas, com maior tolerância a estresses. Além disso, esse autor relata que esta é uma característica fisiológica determinada não apenas pelo ambiente, mas também pelo genótipo.

Neste sentido, com as demandas alimentares da população em constante crescimento, juntamente com o cenário atual de mudanças climáticas, é necessário o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas às condições de estresse, principalmente durante a fase de germinação e estabelecimento inicial das culturas (McClean et al., 2011; Carvalho et al., 2019). Dessa forma, com o presente estudo objetivou-se identificar variabilidade para tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento de plântulas em germoplasma de feijão comum e definir as principais estratégias utilizadas pelos genótipos com maior nível de tolerância ao estresse.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 54 genótipos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) foram utilizados no estudo. Para escolha dos genótipos foram selecionadas cultivares atualmente recomendadas e plantadas, além de linhagens elites do programa de melhoramento genético da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e linhagens pertencentes ao programa de melhoramento para tolerância a seca do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Dentre estes genótipos, foram utilizados o BAT477, descrito como tolerante a seca, e CAR80, descrito como sensível (Recchia et al., 2013). Os genótipos foram obtidos do Banco de Germoplasma de Feijão, do Departamento de Agronomia, da UFV, pertencente ao Programa de Melhoramento Genético de Feijão (Tabela 1).

Tabela 1. Lista de genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizados no estudo.

ID	Código	Grupo comercial	Origem	Tipo de germoplasma
G1D	BRSFP 403	Preto	Embrapa	Cultivar
G2D	BRS Esteio	Preto	Embrapa	Cultivar
G3D	Ouro da Mata	Vermelho	UFV	Cultivar
G4D	Ouro Vermelho	Vermelho	UFV	Cultivar
G5D	BRSMG Realce	Rajado	Embrapa	Cultivar
G6D	CNFP 16373	Preto	Embrapa	Linhagem
G7D	CNFP 16404	Preto	Embrapa	Linhagem
G9D	BRS CNFRS 15558	Rosinha	Embrapa	Cultivar
G10D	BRS CNFRJ 15411	Rajado	Embrapa	Cultivar
G11D	VP35	Preto	UFV	Linhagem
G12D	VP36	Preto	UFV	Linhagem
G13D	VP37	Preto	UFV	Linhagem
G15D	VR23	Vermelho	UFV	Linhagem
G16D	VR24	Vermelho	UFV	Linhagem
G17D	VR25	Vermelho	UFV	Linhagem
G18D	VR26	Vermelho	UFV	Linhagem
G1C	Pérola	Carioca	Embrapa	Cultivar
G2C	BRS Estilo	Carioca	Embrapa	Cultivar
G3C	BRSMG Uai	Carioca	UFLA	Cultivar
G4C	BRSMG VC-25	Carioca	UFV	Cultivar
G5C	BRSMG CXII-13	Carioca	UFLA	Cultivar
G6C	BRS FC406	Carioca	Embrapa	Cultivar
G7C	BRS CNFC 15534	Carioca	Embrapa	Cultivar
G8C	CNFC 16573	Carioca	Embrapa	Linhagem
G9C	CNFC 16579	Carioca	Embrapa	Linhagem
G10C	CNFC 15568	Carioca	Embrapa	Linhagem
G11C	CNFC 16473	Carioca	Embrapa	Linhagem
G12C	CXIII - 1.23	Carioca	UFLA	Linhagem
G13C	RPXI - 18	Carioca	UFLA	Linhagem
G14C	RPXI - 26	Carioca	UFLA	Linhagem
G15C	RPXI - 43	Carioca	UFLA	Linhagem
G16C	MAX - 9	Carioca	UFLA	Linhagem
G17C	MAX - 10	Carioca	UFLA	Linhagem
G18C	VC40	Carioca	UFV	Linhagem
G19C	VC41	Carioca	UFV	Linhagem
G629	IPR Galha	Preto	IAPAR	Cultivar
G632	IPR Tiziu	Preto	IAPAR	Cultivar
G754	SEN 36	Preto	CIAT	Linhagem
G755	SEN 37	Preto	CIAT	Linhagem
G756	SEN 46	Preto	CIAT	Linhagem
G757	SEN 56	Preto	CIAT	Linhagem
G758	SEN 74	Preto	CIAT	Linhagem
G759	SEN 22	Preto	CIAT	Linhagem
G760	SEN 34	Preto	CIAT	Linhagem
G761	SEN 90	Preto	CIAT	Linhagem
G762	SEN 92	Preto	CIAT	Linhagem

Tabela 1. Cont.

ID	Código	Grupo comercial	Origem	Tipo de germoplasma
G763	SEN 93	Preto	CIAT	Linhagem
G768	SEN 10	Preto	CIAT	Linhagem
G847	SEN 95	Preto	CIAT	Linhagem
G848	SEN 98	Preto	CIAT	Linhagem
G849	SEN 99	Preto	CIAT	Linhagem
G911	SEN 70	Preto	CIAT	Linhagem
CAR80	Carioca 80	Carioca	IAC	Cultivar
BAT477	BAT 477	Mulatinho	CIAT	Linhagem

As sementes utilizadas para o estudo foram multiplicadas em campo, no período de outubro de 2019 a janeiro de 2020, na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Diogo Alves de Melo, pertencente ao Departamento de Agronomia da UFV. Para a multiplicação das sementes, a adubação e os tratos culturais foram realizados seguindo as recomendações de Borém e Carneiro (2015).

2.1 Agrupamento de genótipos em função da qualidade fisiológica das sementes

Após a colheita, as sementes foram destinadas ao Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia, para determinação do teor de água e caracterização da qualidade fisiológica. As sementes foram secas em estufa com circulação forçada de ar regulada a 30 °C até atingirem teor de água de 11%, que foi determinado segundo método de estufa (105 °C) de acordo com metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Posteriormente a uniformização da umidade, as sementes dos 54 genótipos foram submetidas aos seguintes testes:

2.1.1 Germinação, primeira contagem de germinação e T50

Foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, distribuídas em rolos de papel toalha umedecidos na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco com água destilada. Os rolos foram mantidos em germinador regulado a 25 °C (Brasil, 2009). As avaliações foram realizadas diariamente com a determinação da porcentagem de plântulas normais. Com os dados das contagens diárias foram obtidos índices de velocidade de germinação e o tempo para germinação de 50% das sementes (T50), utilizando-se o pacote SeedCalc do software R (Silva et al., 2019). A primeira contagem de germinação foi realizada em conjunto com o teste de germinação e consistiu na porcentagem de plântulas normais no 5º dia após a semeadura em papel (Brasil, 2009).

2.1.2 Condutividade elétrica

Foi realizada com quatro repetições de 50 sementes, previamente pesadas e colocadas para embeber em copos plásticos contendo 75 ml de água destilada. O conjunto foi mantido em germinador regulado a 25 °C durante 24 horas (Vieira e Marcos-Filho, 2020). Decorrido este período, a condutividade elétrica da solução de embebição foi determinada por meio de condutivímetro Digimed DM32. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

2.1.3 Envelhecimento acelerado

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes cada, que foram distribuídas em camada única sobre tela metálica dentro de caixas tipo “gerbox”, contendo no fundo 40 mL de água destilada. As caixas foram acondicionadas em câmara tipo “Biological Organism Development” (BOD), à 42 °C, durante 72 horas (Hampton e TeKrony, 1995). Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme metodologia descrita anteriormente, e a avaliação do número de plântulas normais ocorreu no 5º dia após a montagem do teste (Brasil, 2009).

2.1.4 Análise digital do comprimento de plântulas (ImageJ®)

Foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes cada, distribuídas em rolos de papel toalha umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador “*Mangelsdorf*”, a 25 °C, por três dias. Após este período, as plântulas foram submetidas às avaliações de comprimento de parte aérea e raiz, que foi realizada por meio de análise de imagens. As imagens das plântulas foram obtidas por meio de um escâner (HP, Scanjet 200). Todas as imagens foram obtidas com resolução de 200 dpi e então processadas no software ImageJ®. Para análise das imagens no software, foi realizada a calibração prévia da escala, e cada plântula de forma individual teve o hipocótilo e a radícula demarcados separadamente para o computo de seus comprimentos. Os resultados foram expressos em cm plântula^{-1} . A partir dos dados de comprimento da parte aérea e raiz das plântulas foram determinadas, com o auxílio do pacote SeedCalc (Silva et al., 2019), as seguintes características: comprimento total (CT) de plântulas; razão raiz-parte aérea (RSR) (Benincasa, 2003); índice de crescimento (IC) (Sako et al., 2001); índice de vigor (IV) (Sako et al., 2001) e índice de vigor corrigido (IVC) (Medeiros e Pereira, 2018).

2.1.5 Matéria seca de parte aérea e raiz de plântulas

Após a aquisição das imagens, a parte aérea e a raiz das plântulas oriundas do teste de comprimento foram separadas e colocadas em estufa a 65 °C, onde permaneceram por 72 horas. Em seguida, o material foi pesado em balança analítica, com precisão de 0,001g, e a matéria seca determinada e expressa em mg plântula⁻¹ (Krzyzanowski et al., 2020).

2.1.6 Agrupamento K-means

Os 54 genótipos de feijão comum foram agrupados em função da qualidade fisiológica das sementes. Para realização do agrupamento foi utilizado o algoritmo de clusterização *K-means*. O *K-means* é um algoritmo de clusterização não supervisionado, que agrupa aleatoriamente cada observação a um cluster em função de suas características, e encontra o centroide de cada cluster até que a variação dentro do mesmo não possa mais ser reduzida (Defossez et al., 2018). O número ideal de clusters foi determinado segundo método *Gap statistic* (Tibshirani et al., 2001).

2.2 Caracterização fisiológica e fenotipagem radicular para tolerância a seca

Após o agrupamento dos genótipos em função da qualidade fisiológica inicial, o grupo de maior qualidade fisiológica (33 genótipos) foi utilizado para a triagem quanto a tolerância a deficiência hídrica durante a fase de germinação e crescimento inicial das plântulas. Os demais genótipos não foram utilizados para as análises subsequentes, já que a menor qualidade fisiológica das sementes poderia levar à interpretação incorreta quanto ao nível de tolerância ao déficit hídrico.

A triagem dos genótipos foi realizada em laboratório, por meio do uso de polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) no potencial osmótico de -0,3 Mpa para imposição do estresse durante a germinação. O tratamento controle consistiu apenas na utilização de água destilada. O potencial osmótico de -0,3 Mpa foi determinado anteriormente por meio de um experimento piloto com diferentes genótipos. Este potencial foi suficiente para reduzir de forma significativa a germinação e o crescimento de plântulas sem impossibilitar a discriminação dos genótipos. A quantidade de PEG foi determinada segundo Villela et al. (1991). Para triagem dos genótipos, as seguintes avaliações foram realizadas:

2.2.1 Germinação e primeira contagem de germinação

Quatro repetições de 50 sementes foram distribuídas sobre papel toalha umedecido com 2,5 vezes o peso do papel seco com a solução de PEG 6000, no potencial osmótico de -0,3 Mpa.

Os rolos foram mantidos em germinador regulado a 25 °C durante todo o período de condução do teste. Para o controle, o papel toalha foi umedecido somente com água destilada. As avaliações consistiram na contagem do número de plântulas normais ao 5º (primeira contagem) e 9º dia (contagem final) após a montagem do teste (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

2.2.2 Análise digital do comprimento de plântulas (ImageJ®)

Foi conduzido com quatro repetições de 20 sementes por tratamento, distribuídas em rolos de papel toalha umedecidos na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco com a solução de PEG 6000 no potencial osmótico de -0,3 Mpa, e água destilada para o controle. Os rolos foram mantidos em germinador, a 25 °C, por cinco dias. Após este período, as plântulas foram submetidas às avaliações de comprimento de parte aérea e da raiz principal, que foi realizada por meio de análise de imagens. As imagens das plântulas foram obtidas por meio de um escâner (HP, Scanjet 200). Todas as imagens foram obtidas com resolução de 200 dpi e então processadas no software ImageJ®. Para análise das imagens no software, foi realizada a calibração prévia da escala, e cada plântula de forma individual teve o hipocótilo e a radícula demarcados separadamente para o computo de seus comprimentos. Os resultados foram expressos em cm plântula⁻¹ (Krzyzanowski et al., 2020).

2.2.3 Avaliação de caracteres radiculares

Posteriormente à análise digital do comprimento das plântulas, o sistema radicular foi separado da parte aérea e posto para flutuar em uma lâmina de água no interior de uma bandeja de acrílico (30 x 40 cm) e escaneados. Foi utilizado um escâner óptico que gerou imagens em escala de cinza com resolução de 400 dpi. As mesmas foram processadas no software WinRhizo Pro para obtenção do comprimento total de raiz (CTR), área superficial total de raiz (ASR), volume radicular (VR) e comprimento de raiz fina entre 0 e 0,5 mm de diâmetro (CRF).

2.2.4 Matéria seca de parte aérea e raiz

Após a determinação dos comprimentos e da avaliação dos caracteres radiculares, a parte aérea e raiz das plântulas, separadas, foram acondicionadas em estufa a 65 °C, onde permaneceram por 72 horas. Posteriormente foi realizada a pesagem do material em balança analítica, com precisão de 0,001 g, e determinada a matéria seca, expressa em mg plântula⁻¹ (Krzyzanowski et al., 2020).

2.3 Delineamento experimental e análise estatística

O agrupamento em função da qualidade fisiológica das sementes, foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado e os dados das 13 variáveis obtidas para as sementes dos 54 genótipos de feijão foram submetidas ao algoritmo de clusterização *k-means*, com o número ótimo de clusters definido pelo método *Gap statistic* (Tibshirani et al., 2001). De forma conjunta foi realizada uma análise de componentes principais. Uma matriz “n x p” foi obtida, onde “n” corresponde ao número de genótipos (n = 54) e “p” o número de variáveis utilizadas para a avaliação da qualidade fisiológica (p = 13). Os autovalores e autovetores foram calculados a partir das matrizes de covariância e plotados em gráficos bidimensionais (diagrama de ordenação de categorias e círculo de correlações), geradas a partir do pacote Factoextra (Kassambara e Mundt, 2016). A análise dos dados foi efetuada com o auxílio do software estatístico R (R Core Team, 2021).

O experimento de fenotipagem para tolerância a seca foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 33 x 2, sendo 33 genótipos de feijão e dois potenciais osmóticos, com quatro repetições. Após a validação da normalidade dos erros e homogeneidade de variância, respectivamente pelos testes de Kolmogorov Smirnov e Levene, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para atender as pressuposições da análise de variância, os dados de matéria seca da parte aérea, CTR e CRF foram transformados utilizando raiz quadrada e para CPA foi utilizado log10. As médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Todas as características avaliadas foram submetidas a análise multivariada de componentes principais, sendo computado o índice de tolerância ao estresse (ITE), adaptado de Bouslama e Schapaugh (1984), para cada uma delas. Este índice apresenta a seguinte fórmula:

$$ITE = \frac{m_e}{m_c} \times 100$$

Em que: m_e e m_c representam a média da variável em questão no potencial -0,3 Mpa (déficit hídrico) e no controle (0,0 Mpa), respectivamente.

Foi obtida uma matriz “n x p”, onde “n” corresponde ao número de genótipos (n = 33) e “p” o número de variáveis utilizadas para triagem (p = 13). Os autovalores e autovetores foram calculados a partir das matrizes de covariância e plotados em gráficos bidimensionais (diagrama de ordenação de categorias e círculo de correlações), geradas a partir do pacote Factoextra

(Kassambara e Mundt, 2016). Toda análise estatística foi realizada com o auxílio do software estatístico R (R Core Team, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Agrupamento de genótipos em função da qualidade fisiológica das sementes

A análise de agrupamento foi realizada com o número ótimo de *clusters* calculado pelo método *Gap statistic* (Tibshirani et al., 2001). O valor k encontrado foi igual a “dois” para o conjunto de dados de 13 características de qualidade fisiológica de sementes de 54 genótipos de feijão comum (Figura 1).

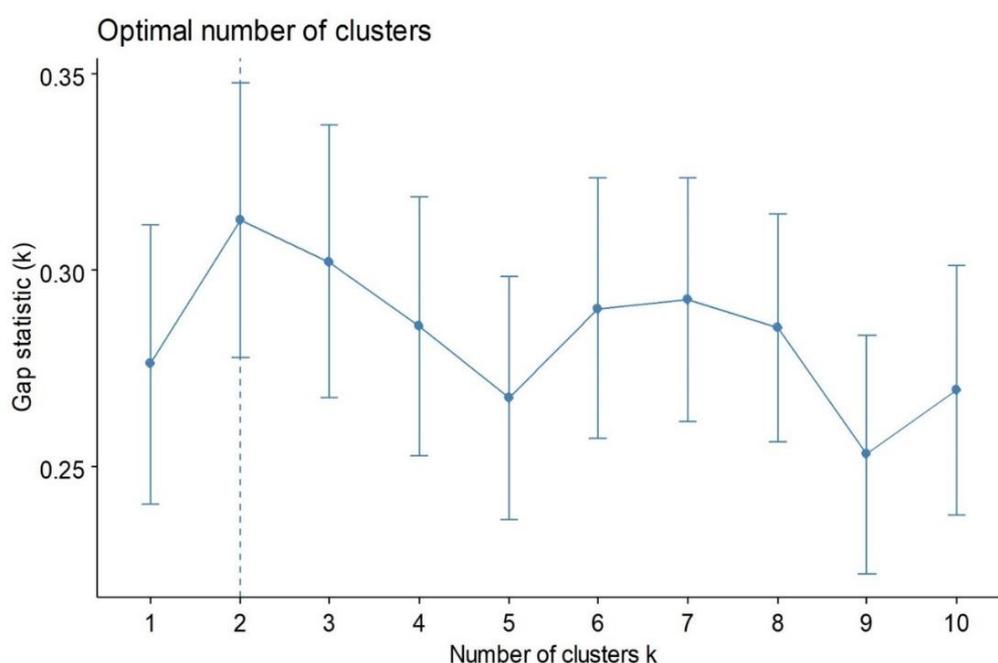


Figura 1. Número ótimo de *clusters* (k) para o conjunto de dados de qualidade fisiológica de sementes de 54 genótipos de feijão, baseado no método *Gap statistic*.

Os dois grupos formados foram então representados graficamente por meio da análise de componentes principais, que baseado no algoritmo *K-means*, posicionou cada genótipo em seu respectivo grupo (Figura 2). Dentre eles, 33 genótipos foram alocados no “grupo 1”, que ficou posicionado nos escores positivos do PC1, e próximo aos vetores das variáveis relacionados com maior qualidade fisiológica (G, PCG, IVG, EA, CRA, CPA, CT, IC, IV e IVC). Os outros 21 genótipos foram dispostos no “grupo 2”, em direção oposta aos vetores das variáveis de qualidade fisiológica e em direção aos vetores que indicam baixa qualidade fisiológica, ou seja, maiores valores de T50 e CE. Assim, foi observado maior qualidade

Prazeres et al. (2021) identificaram resposta diferencial de sementes de híbridos de milho com diferentes níveis de qualidade fisiológica para tolerância a seca. O híbrido com sementes mais vigorosas apresentou maior presença de mecanismos de tolerância a seca relacionados a maior combate ao estresse oxidativo por meio do acúmulo de prolina e aumento de atividade de enzimas do sistema antioxidante.

No presente estudo, os genótipos reunidos no “grupo 1” apresentaram maior qualidade fisiológica das sementes por mostrarem maiores resultados nos testes de germinação e vigor. Diante do observado, estes apresentaram maior e mais rápida germinação, maior potencial de armazenamento e emergência em campo, deferido pelo teste de envelhecimento acelerado, além, de forma geral, maior e mais uniforme crescimento de plântulas.

Por outro lado, os genótipos do “grupo 2”, além de menor desempenho fisiológico apresentaram maiores valores de condutividade elétrica e para o tempo necessário para alcançar 50% de plântulas normais no teste de germinação. Por meio do teste de condutividade elétrica é possível identificar menor velocidade de restabelecimento do sistema de membranas celulares para as sementes dos genótipos do grupo 2 e maior lixiviação dos conteúdos celulares, o que reflete em menor vigor dessas sementes (Marcos-Filho, 2015). Em relação ao T50, sua maior correlação observada na PCA para os genótipos do grupo 2 revela germinação mais lenta e pode indicar menor desempenho das sementes em campo. Segundo Amorim et al. (2021), o T50 é muito utilizado para explorar o vigor de diferentes lotes de sementes, sendo os menores valores de T50 indicativo de lotes mais vigorosos.

Uma vez que sementes de menor vigor são também mais susceptíveis a condições de estresse, a padronização ou balizamento do vigor é fundamental para uma seleção mais confiável. Desta forma, de um germoplasma inicial de 54 genótipos, os 33 genótipos do grupo de maior qualidade fisiológica foram utilizados para a triagem quanto a tolerância a deficiência hídrica nos estádios iniciais.

3.2 Triagem de genótipos de feijão comum para a tolerância a seca

A análise de variância realizada para as variáveis de desempenho dos 33 genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos apresentou, para todas as variáveis, interação significativa entre os genótipos e os potenciais osmóticos (Tabela 2). Assim, procedeu-se ao estudo da interação entre estes fatores.

Tabela 2. Resumo da análise de variância das variáveis de desempenho germinativo, crescimento de plântulas, características da arquitetura do sistema radicular e índices relacionados ao crescimento de plântulas de 33 genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos.

FV	GL	GER	PCG	CPA ²	CRA	MSPA ¹	MSRA	CTR ¹	ASR	VR	CRF ¹	IC	IV	IVC
Quadrado médio														
G	32	598*	692*	0,01*	4,00*	0,32*	3,26*	0,83*	2,74*	0,0007*	0,57*	34217*	20567*	32206*
P	1	40718*	140393*	49,13*	1876,92*	474,17*	817,02*	848,28*	1882,96*	0,3810*	589,96*	19512318*	9805394*	10817245*
G x P	32	440*	486*	0,002*	3,98*	0,27*	2,41*	0,68*	2,33*	0,0006*	0,38*	33706*	20235*	27457*
Res	198	39	42	0,26	0,97	0,04	0,18	0,13	0,34	0,00007	0,1	8964	5086	3545
CV (%)		9.57	12.29	10,36	14,53	5,57	12,2	8,44	14,11	12,82	12,47	14,65	10,93	13,35

GER: germinação (%); PCG: primeira contagem de germinação (%); CPA: comprimento de parte aérea (cm.plântula⁻¹); CRA: comprimento de raiz (cm.plântula⁻¹); MSPA: matéria seca de parte aérea (mg plântula⁻¹); MSRA: matéria seca de raiz (mg plântula⁻¹); CTR: comprimento total de raiz (cm plântula⁻¹); ASR: área superficial total de raiz (cm² plântula⁻¹); VR: volume radicular (cm³ plântula⁻¹); CRF: comprimento de raiz fina (cm plântula⁻¹); IC: índice de crescimento; IV: índice de vigor; IVC: índice de vigor corrigido. *significativo pelo teste F a 5% de probabilidade. ¹Dados transformados por raiz quadrada de Y. ² Dados transformados por log10 de Y. FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; G: Genótipo; P: Potencial osmótico; CV: Coeficiente de variação.

Ao se estudar o efeito do potencial osmótico no desempenho germinativo e crescimento de plântulas de genótipos de feijão comum, o controle (C) proporcionou médias superiores ao tratamento de deficiência hídrica (DH). Desta forma, o déficit hídrico simulado diminuiu a germinação, bem como a primeira contagem de germinação e reduziu o crescimento das plântulas (Tabela 3).

Segundo Marcos-Filho (2015), a deficiência hídrica reduz inicialmente a velocidade de germinação das sementes, que se estende a porcentagem final de germinação em potenciais osmóticos mais negativos. O déficit hídrico durante a germinação, reduz o metabolismo de carboidratos em razão da menor atividade de enzimas hidrolíticas importantes para o fornecimento de energia para o embrião (Biju et al., 2017). Germinação baixa e lenta ocasionada por menor absorção de água sob déficit hídrico pode resultar ainda em diminuição no número de plantas por área (Jajarmi et al., 2009), devido aos prejuízos na emergência das plântulas em campo.

Além da germinação, o déficit hídrico afetou o crescimento das plântulas de todos os genótipos. Esse fato é justificado devido a menor expansão celular, assimilação e partição de carbono (Hsiao e Xu, 2000). Para genótipos de colza, Jabbari et al. (2013) observaram reduções no comprimento e peso seco de parte aérea e raiz das plântulas e atribuíram os resultados observados a menor remobilização de reservas para o crescimento do embrião. A redução no crescimento de plântulas também foi observada sob deficiência hídrica simulada por PEG 6000 por Nascimento et al. (2019) em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.).

No tratamento controle, o genótipo G10C apresentou os maiores valores para as variáveis de germinação e crescimento de plântulas (Tabela 3). Por outro lado, G629, G848 e G12C apresentaram os menores valores para essas variáveis.

Sob déficit hídrico, a referência tolerante BAT477 apresentou desempenho superior para as variáveis de germinação e crescimento de plântulas (Tabela 3). Além disso, com germinação de 82% sob deficiência hídrica, BAT477 foi o único genótipo a alcançar o padrão de 80% para comercialização para sementes de feijão comum (Brasil, 2013). De forma análoga, os genótipos G13D e G629 também apresentaram maiores desempenhos em relação aos demais genótipos, para as características mencionadas. A referência sensível (CAR80) e o genótipo G11C apresentaram germinação mais lenta e baixa, além de reduzido crescimento de plântulas sob déficit hídrico, sendo, portanto, os genótipos de pior desempenho em comparação com os demais.

Diversidade no potencial de germinação das sementes sob déficit hídrico também foi observado entre genótipos de lentilha por Muscolo et al. (2014). De acordo com esses autores,

os genótipos com maior germinação foram considerados como tolerantes a seca em comparação com os genótipos classificados como sensíveis, que apresentaram as maiores reduções na porcentagem de germinação. Além disso, eles correlacionaram, além de outros fatores, a maior atividade das enzimas hidrolíticas α , β -amilase e α -glucosidase, presentes no metabolismo germinativo, com a tolerância a seca. Maior nível de hidratação das sementes e maior atividade dessas enzimas foram observadas em genótipos de lentilha por eles selecionados como tolerantes ao déficit hídrico.

No presente trabalho, apesar da restrição hídrica reduzir o crescimento das plântulas de feijão, BAT477, G13D e G629 apresentaram os menores impactos sob baixa disponibilidade hídrica em comparação com CAR80 e G11C. Na cultura do milho, Shivhare e Lata (2019) atribuíram maior tolerância a seca para genótipos com redução mínima no comprimento e matéria seca da parte aérea e raiz das plântulas. Em genótipos de lentilha tolerantes ao déficit hídrico, Biju et al. (2017) também identificaram menores reduções no peso seco das plântulas em comparação com genótipos mais sensíveis, comprovando o nível de tolerância a seca diferencial entre os genótipos estudados.

Dentre as variáveis de crescimento abordadas neste estudo, pode-se destacar o comprimento da raiz, que foi superior nos genótipos de maior desempenho sob déficit hídrico. Polania et al. (2020) destacam que o comprimento da raiz se correlaciona com a tolerância ao déficit hídrico em feijão comum, pois o fenótipo de raízes mais profundas e mais vigorosas consiste em estratégia para maior acesso a fontes de água que se encontram mais profundas no solo, o que resulta em maior estado hídrico da planta.

Tabela 3. Médias e agrupamento Scott-Knott para germinação, primeira contagem de germinação e crescimento de plântulas de 33 genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos.

GEN	G		PCG		CPA		CRA		MSPA		MSRA	
	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH
G629	83 bA	69 bB	82 bA	39 dB	5,70 dA	1,01 bB	7,82 bA	5,70 aB	20,10 dA	5,87 bB	4,00 fA	2,16 bB
G632	79 bA	73 bB	79 bA	59 bB	6,59 cA	0,95 bB	8,69 bA	4,15 bB	29,41 aA	5,79 bB	6,68 bA	1,95 bB
G755	71 cA	63 cB	65 cA	26 eB	7,73 bA	0,96 bB	11,75 aA	4,06 bB	20,54 dA	5,57 bB	3,91 fA	1,43 cB
G756	70 cA	63 cB	68 cA	41 cB	7,13 cA	0,94 bB	9,50 bA	3,57 bB	23,81 cA	5,75 bB	3,71 fA	1,27 cB
G758	74 cA	48 eB	70 cA	30 eB	5,90 dA	0,93 bB	10,96 aA	4,98 aB	24,74 cA	6,66 bB	5,06 dA	2,07 bB
G761	81 bA	53 dB	79 bA	35 dB	6,22 dA	0,86 cB	9,28 bA	3,68 bB	28,65 bA	7,82 aB	5,77 cA	2,62 aB
G762	69 cA	54 dB	68 cA	21 eB	7,10 cA	0,96 bB	8,85 bA	2,71 bB	23,89 cA	4,31 cB	3,80 fA	1,10 cB
G768	78 bA	46 eB	76 bA	25 eB	6,32 dA	0,77 cB	10,45 aA	3,06 bB	27,93 bA	6,09 bB	6,38 bA	141 cB
G848	66 cA	30 fB	61 cA	17 fB	6,63 cA	1,00 bB	8,83 bA	4,10 bB	24,70 cA	8,69 aB	4,11 fA	1,99 bB
G10C	91 aA	60 cB	90 aA	34 dB	8,86 aA	0,88 cB	10,97 aA	3,34 bB	31,72 aA	5,43 bB	6,14 bA	1,22 cB
G11C	76 cA	44 eB	74 cA	16 dB	6,79 cA	0,78 cB	10,86 aA	2,45 bB	26,26 bA	3,30 cB	5,21 dA	1,18 cB
G12C	75 cA	61 cB	78 bA	20 eB	5,69 dA	0,93 bB	7,53 bA	4,65 aB	22,26 dA	7,45 aB	4,71 eA	2,29 aB
G13C	71 cA	47 eB	69 cA	14 fB	7,05 cA	0,98 bB	10,17 aA	5,42 aB	24,57 cA	5,89 bB	5,03 dA	1,71 cB
G13D	79 bA	72 bB	78 bA	52 bB	7,64 bA	1,07 aB	10,82 aA	5,86 aB	27,30 bA	6,74 bB	5,75 cA	2,06 bB
G14C	71 cA	33 fB	70 cA	7 fB	7,08 cA	0,85 cB	9,15 bA	3,43 bB	27,31 bA	5,74 bB	6,06 bA	1,47 cB
G15C	87 aA	38 fB	87 aA	18 fB	6,70 cA	0,84 cB	10,70 aA	3,73 bB	26,04 bA	6,48 bB	5,81 cA	1,69 cB
G15D	72 cA	56 dB	70 cA	44 cB	6,99 cA	0,85 cB	9,29 bA	3,94 bB	22,27 dA	5,35 bB	4,45 eA	1,97 bB
G16D	70 cA	64 cB	69 cA	47 cB	8,06 bA	0,98 bB	9,98 aA	4,07 bB	25,78 bA	6,47 bB	4,64 eA	1,89 bB
G17D	72 cA	62 cB	72 cA	26 eB	7,48 bA	0,79 cB	8,69 bA	4,04 bB	22,11 dA	4,66 cB	3,47 fA	1,61 cB
G18C	79 bA	50 eB	77 bA	39 dB	5,89 dA	0,82 cB	8,25 bA	3,92 bB	23,85 cA	3,71 cB	6,64 bA	1,20 cB
G18D	89 aA	78 aB	87 aA	48 cB	6,95 cA	0,88 cB	7,80 bA	3,81 bB	25,32 cA	5,65 bB	4,02 fA	1,65 cB
G19C	90 aA	49 eB	88 aA	16 fB	8,14 bA	1,10 aB	10,10 aA	4,58 aB	30,83 aA	7,13 aB	5,38 cA	1,77 bB
G1C	78 bA	34 fB	75 cA	16 fB	6,52 cA	0,94 bB	8,95 bA	2,74 bB	27,70 bA	3,96 cB	4,61 eA	1,45 cB
G4C	70 cA	31 fB	66 cA	12 fB	6,01 dA	0,93 bB	8,63 bA	3,34 bB	25,04 cA	6,22 bB	4,96 dA	1,27 cB

Tabela 3. Cont.

	G		PCG		CPA		CRA		MSPA		MSRA	
	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH
G4D	79 bA	62 cB	78 bA	42 cB	7,77 bA	0,98 bB	8,56 bA	4,93 aB	23,82 cA	6,56 bB	4,46 eA	2,03 bB
G5C	80 bA	54 dB	80 bA	36 dB	6,90 cA	0,83 cB	9,72 aA	4,49 aB	26,88 bA	4,93 cB	6,11 bA	1,96 bB
G5D	79 bA	20 gB	76 bA	8 fB	3,52 eA	0,83 cB	9,55 bA	4,44 aB	26,96 bA	6,30 bB	8,88 aA	2,61 aB
G7C	84 aA	34 fB	80 bA	14 fB	6,79 cA	0,90 cB	9,49 bA	2,80 bB	28,73 bA	3,76 cB	5,34 cA	1,65 cB
G7D	77 cA	62 cB	75 cA	44 cB	5,94 dA	0,85 cB	8,62 bA	4,58 aB	24,87 cA	5,63 bB	5,81 cA	1,51 cB
G8C	83 bA	46 eB	82 bA	15 fB	7,27 cA	1,14 aB	10,43 aA	5,27 aB	27,61 bA	7,43 aB	5,39 cA	2,09 bB
G9C	76 cA	53 dB	74 cA	24 eB	6,87 cA	0,93 bB	9,21 bA	4,11 bB	28,27 bA	6,41 bB	5,45 cA	1,81 bB
BAT477	84 aA	82 aB	83 aA	71 aB	6,93 cA	1,15 aB	9,22 bA	6,37 aB	28,01 bA	5,88 bB	5,95 bA	2,53 aB
CAR80	86 aA	57 dB	85 aA	33 dB	6,22 dA	0,78 cB	8,46 bA	2,96 bB	24,75 cA	3,68 cB	6,08 bA	1,02 cB

GEN: genótipo; C (Controle): 0,0 MPa; DH (Déficit hídrico): -0,3 MPa; G: germinação (%); PCG: primeira contagem de germinação (%); CPA: comprimento de parte aérea (cm plântula⁻¹); CRA: comprimento de raiz (cm plântula⁻¹); MSPA: matéria seca de parte aérea (mg plântula⁻¹); MSRA: matéria seca de raiz (mg plântula⁻¹). Para cada genótipo, letras minúsculas iguais na coluna significam que pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para cada potencial osmótico letras maiúsculas iguais na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Em relação às características da arquitetura do sistema radicular, como comprimento total de raiz, área superficial de raiz, volume de raiz, comprimento de raízes finas, ao se comparar os potenciais osmóticos, observa-se médias superiores no controle em relação ao déficit hídrico para todos os genótipos (Tabela 4). Este fato aponta o prejuízo da deficiência hídrica para o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular dos genótipos avaliados. De acordo com Maurel e Nacry (2020), o crescimento da raiz primária e a formação de raízes laterais é variável em função da intensidade da restrição hídrica. Deficiências hídricas moderadas aumentam o crescimento da raiz primária e a formação de raízes laterais, enquanto déficit hídrico severo exibe efeitos inibitórios (Jung et al., 2013). Redução no crescimento da raiz sob deficiência hídrica simulada por PEG 6000 foi observada por Hellal et al. (2018) em plântulas de cevada com oito dias de desenvolvimento. Os autores atribuíram os resultados observados aos impactos do déficit hídrico na divisão e alongamento das células da região meristemática da raiz. De acordo com esses autores, a pressão de turgor nas células é menor devido a menor absorção de água sob deficiência hídrica, fato que restringe ou diminui a taxa de crescimento do órgão.

A comparação das médias dos genótipos para as características da arquitetura do sistema radicular dentro do controle apontou G5D como o genótipo de maior desempenho geral (Tabela 4). Por outro lado, os genótipos G848 e agora G17D alcançaram menores médias sob condições de plena disponibilidade hídrica. Melhor desempenho geral foi novamente observado para BAT477, G629 e G13D, sob déficit hídrico, que tiveram as maiores médias para as características da arquitetura do sistema radicular (Tabela 4). Por outro lado, CAR80, G11C e G1C foram os genótipos que apresentaram os piores desempenhos em comparação com os demais genótipos.

Tabela 4. Médias e agrupamento Scott-Knott para variáveis da arquitetura do sistema radicular de 33 genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos.

GEN	CTR		ASR		VR		CRF	
	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH
G629	30,90 cA	9,28 aB	5,50 eA	2,14 aB	0,080 dA	0,035 aB	15,89 cA	3,22 aB
G632	39,83 bA	6,51 bB	7,53 cA	1,57 aB	0,117 bA	0,031 aB	17,95 bA	1,60 bB
G755	32,89 cA	6,35 bB	6,04 dA	1,37 bB	0,089 dA	0,024 bB	14,57 cA	1,63 bB
G756	28,33 cA	5,08 cB	5,46 eA	1,20 bB	0,085 dA	0,023 bB	11,92 cA	1,05 bB
G758	36,08 cA	6,80 bB	6,71 dA	1,65 aB	0,101 cA	0,032 aB	16,71 cA	1,28 bB
G761	34,87 cA	5,91 bB	6,98 cA	1,65 aB	0,114 bA	0,037 aB	15,07 cA	1,09 bB
G762	31,59 cA	3,70 cB	5,70 eA	0,93 bB	0,083 dA	0,019 bB	15,13 cA	0,60 cB
G768	41,24 bA	3,68 cB	8,31 bA	1,01 bB	0,136 aA	0,022 bB	17,49 cA	0,31 cB
G848	30,43 cA	5,98 bB	5,58 eA	1,51 aB	0,083 dA	0,031 aB	15,15 cA	1,19 bB
G10C	47,26 aA	4,39 cB	8,46 bA	1,04 bB	0,123 bA	0,020 bB	22,47 bA	0,72 cB
G11C	32,13 cA	3,32 cB	6,25 dA	0,85 bB	0,098 cA	0,018 bB	15,10 cA	0,44 cB
G12C	30,50 cA	7,11 bB	6,11 dA	1,90 aB	0,100 cA	0,037 aB	12,56 cA	1,54 bB
G13C	33,70 cA	6,24 bB	6,22 dA	1,48 aB	0,093 cA	0,028 bB	16,42 cA	1,05 bB
G13D	42,22 bA	9,86 aB	7,87 bA	2,34 aB	0,119 bA	0,044 aB	20,07 bA	2,46 aB
G14C	36,80 bA	4,34 cB	7,20 cA	1,09 bB	0,115 bA	0,022 bB	15,22 cA	0,45 cB
G15C	40,55 bA	4,94 cB	7,52 cA	1,26 bB	0,113 bA	0,026 bB	19,10 bA	0,64 cB
G15D	30,24 cA	5,96 bB	5,81 eA	1,56 aB	0,091 cA	0,033 aB	13,58 cA	1,00 bB
G16D	41,11 bA	7,41 bB	7,02 cA	1,69 aB	0,097 cA	0,031 aB	21,09 bA	1,97 aB
G17D	29,22 cA	6,00 bB	5,21 eA	1,45 aB	0,076 dA	0,028 bB	15,12 cA	1,28 bB
G18C	40,89 bA	5,50 bB	8,06 bA	1,28 bB	0,130 aA	0,024 bB	16,22 cA	1,06 bB
G18D	31,45 cA	6,27 bB	5,77 eA	1,45 aB	0,086 dA	0,027 bB	14,94 cA	1,48 bB
G19C	36,90 bA	6,55 bB	7,14 cA	1,64 aB	0,112 bA	0,033 aB	16,42 cA	1,12 bB

Tabela 4. Cont.

GEN	CTR		ASR		VR		CRF	
	C	DH	C	DH	C	DH	C	DH
G1C	30,45 cA	3,18 cB	5,88 eA	0,97 bB	0,092 cA	0,023 bB	12,95 cA	0,20 cB
G4C	31,22 cA	4,25 cB	6,24 dA	1,15 bB	0,102 cA	0,025 bB	13,36 cA	0,50 cB
G4D	32,40 cA	6,21 bB	6,15 dA	1,76 aB	0,095 cA	0,032 aB	14,79 cA	1,31 bB
G5C	42,24 bA	7,26 bB	7,97 bA	1,66 aB	0,122 bA	0,030 aB	19,57 bA	1,77 bB
G5D	53,51 aA	6,34 bB	9,48 aA	1,65 aB	0,140 aA	0,035 aB	27,61 aA	1,30 bB
G7C	36,67 bA	3,93 cB	6,59 dA	1,07 bB	0,096 cA	0,023 bB	18,22 bA	0,78 cB
G7D	37,49 bA	6,12 bB	7,11 cA	1,41 bB	0,109 bA	0,026 bB	17,24 cA	1,24 bB
G8C	33,62 cA	7,11 bB	6,43 dA	1,73 aB	0,100 cA	0,034 aB	14,78 cA	1,24 bB
G9C	33,11 cA	6,32 bB	6,80 dA	1,60 aB	0,114 bA	0,033 aB	13,49 cA	1,31 bB
BAT477	40,97 bA	11,51 aB	8,16 bA	2,78 aB	0,131 aA	0,049 aB	16,77 cA	3,38 aB
CAR80	39,05 bA	3,52 cB	7,71 cA	0,83 bB	0,123 bA	0,016 bB	15,69 cA	0,54 cB

GEN: genótipo; C (Controle): 0,0 Mpa; DT (Déficit hídrico): -0,3 Mpa; CTR: comprimento total de raiz (cm plântula⁻¹); ASR: área superficial de raiz (cm² plântula⁻¹); VR: volume de raiz (cm³ plântula⁻¹); CRF: comprimento de raízes finas (cm plântula⁻¹). Para cada genótipo, letras minúsculas iguais na coluna significam que pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para cada potencial osmótico letras maiúsculas iguais na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

O sistema radicular das plantas é diretamente responsável pela aquisição de recursos do solo importantes para o desenvolvimento, como nutrientes e água (Strock et al., 2019). Em meio às variações na umidade do solo, respostas a nível celular e na arquitetura radicular são observadas, sendo coordenadas por eventos de divisão, alongamento e diferenciação celular (Gupta et al., 2020). Desta forma, a fenotipagem para a arquitetura do sistema radicular pode ser eficaz no melhoramento em busca de um ideótipo com maior capacidade de aquisição de recursos e conseqüentemente melhor rendimento da cultura sob estresse (York et al., 2013; Lynch, 2018). Além disso, é comprovada a contribuição significativa que o genótipo da raiz tem para a produtividade do feijão sob déficit hídrico (White e Castillo, 1989).

A arquitetura do sistema radicular tem a capacidade de moldar sua morfologia possibilitando maior capacidade de absorção de água sob escassez hídrica (Dinneny, 2019). Uma característica importante destacada por Strock et al. (2019) como associada a tolerância ao déficit hídrico em feijão é a maior presença de raízes basais e adventícias, que proporcionam maior absorção de água e possivelmente contribuem para os maiores valores de comprimento total de raízes observados nos genótipos mais tolerantes.

Aliado ao comprimento total de raízes, as variáveis de área superficial de raiz e o volume radicular caracterizam o chamado enraizamento proliferativo, citado por Ye et al. (2018) como responsável por maior eficiência na absorção de água sob déficit hídrico. Além disso, maior presença de raízes finas revela o real potencial da área superficial de raízes, que é um importante indicativo da absorção de água e nutrientes pelas plantas, ou seja, maior presença de raízes finas configura maior área superficial para realizar a absorção destes recursos (Landi et al., 2010).

A correlação entre área superficial das raízes e o comprimento de raízes finas foi comprovado no presente estudo para BAT477 e para os genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico. Além de maior área superficial de raiz, esses genótipos apresentaram maior comprimento de raízes finas em comparação com os mais sensíveis. Esses resultados estão de acordo com Henry et al. (2012) que atribuem a maior adaptação ao déficit hídrico das plantas ao menor diâmetro de raízes e ao maior comprimento específico dessas raízes finas.

Assim, os genótipos BAT477, G629 e G13D apresentaram sistema radicular mais profundo e mais proliferativo, que pode ser capaz de evitar o déficit hídrico por maior acesso a recursos hídricos do solo (Ye et al., 2018). G11C e CAR80 apresentaram, em geral, as maiores reduções no crescimento radicular sob déficit hídrico em comparação com o controle. Estes resultados também puderam ser constatados de forma visual (Figura 3).

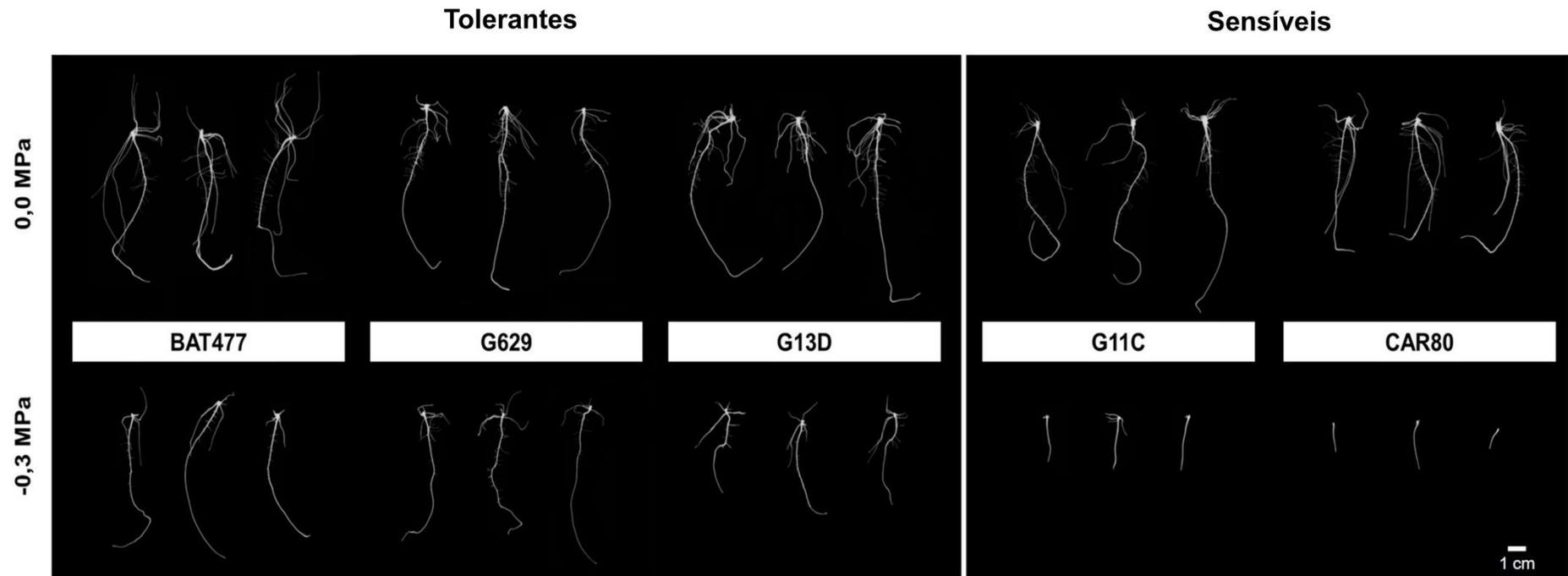


Figura 3. Sistema radicular de genótipos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) identificados como tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico, avaliados em dois potenciais osmóticos (0,0 MPa e -0,3 MPa) durante o processo de germinação das sementes.

Para os índices relacionados ao crescimento de plântulas (IC, IV e IVC), em todos os genótipos avaliados, maiores médias foram observadas para o controle em comparação ao déficit hídrico (Tabela 5).

Tabela 5. Médias e agrupamento Scott-Knott para os índices relacionados ao crescimento de plântulas de 33 genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos.

GEN	IC		IV		IVC	
	C	DH	C	DH	C	DH
G629	760,85 bA	523,04 aB	716,84 cA	579,12 aB	580,64 dA	401,52 bB
G632	848,12 bA	383,31 cB	751,48 cA	427,29 cB	593,67 dA	309,78 cB
G755	1134,92 aA	374,78 cB	982,43 aA	443,31 cB	660,77 cA	279,29 cB
G756	926,59 bA	330,48 cB	845,88 bA	424,42 cB	592,12 dA	265,26 cB
G758	1045,23 aA	457,38 bB	930,25 aA	504,11 bB	688,38 bA	247,37 cB
G761	897,04 bA	339,60 cB	818,13 cA	461,39 cB	662,69 cA	244,53 cB
G762	867,37 bA	253,81 cB	842,67 bA	406,27 cB	558,97 dA	217,36 dB
G768	1003,39 aA	282,74 cB	899,20 bA	398,50 cB	737,34 bA	183,31 dB
G848	861,06 bA	379,35 cB	847,26 bA	445,58 cB	488,06 dA	133,67 eB
G10C	1075,57 aA	309,59 cB	1011,42 aA	389,26 cB	848,03 aA	233,55 dB
G11C	1044,92 aA	228,49 cB	911,00 bA	353,33 cB	725,15 bA	153,70 eB
G12C	734,37 bA	427,84 bB	709,21 cA	499,71 bB	531,91 dA	306,49 cB
G13C	985,76 aA	440,46 bB	943,08 aA	501,01 bB	626,07 cA	232,97 dB
G13D	1050,12 aA	537,81 aB	964,74 aA	592,35 aB	762,14 bA	393,91 bB
G14C	894,04 bA	317,49 cB	798,39 cA	418,71 cB	566,86 dA	138,18 eB
G15C	1029,64 aA	344,07 cB	918,49 aA	440,27 cB	799,08 aA	167,30 eB
G15D	905,70 bA	363,12 cB	820,49 cA	456,65 cB	590,76 dA	253,44 cB
G16D	978,63 aA	375,77 cB	891,34 bA	457,14 cB	623,94 cA	292,57 cB
G17D	856,86 bA	371,76 cB	843,06 bA	430,54 cB	567,35 dA	266,93 cB
G18C	801,69 bA	360,78 cB	726,82 cA	407,71 cB	574,19 dA	203,85 dB
G18D	771,20 bA	351,99 cB	736,98 cA	458,19 cB	655,91 cA	357,39 bB
G19C	990,28 aA	423,29 bB	892,47 bA	478,23 bB	803,22 aA	231,94 dB
G1C	870,57 bA	256,24 cB	863,34 bA	385,96 cB	626,91 cA	131,23 eB
G4C	870,57 bA	256,24 cB	761,04 cA	427,42 cB	532,73 dA	130,36 eB
G4D	848,42 bA	419,34 bB	776,24 cA	490,14 bB	613,23 cA	301,43 cB
G5C	943,80 aA	412,04 bB	852,92 bA	475,17 bB	682,33 bA	254,22 cB
G5D	894,36 bA	407,79 bB	791,79 cA	500,12 bB	625,51 cA	97,52 eB
G7C	921,54 bA	260,97 cB	846,89 bA	405,73 cB	711,39 bA	135,92 eB
G7D	835,26 bA	420,77 bB	791,51 cA	489,84 bB	609,46 cA	301,25 cB
G8C	1011,71 aA	485,93 bB	898,26 bA	546,35 aB	745,55 bA	221,27 dB
G9C	897,93 bA	379,21 cB	873,23 bA	494,85 bB	623,80 cA	262,27 cB
BAT477	913,10 bA	601,99 aB	860,31 bA	629,35 aB	722,66 bA	484,26 aB
CAR80	823,76 bA	273,81 cB	770,33 cA	349,84 cB	662,48 cA	199,41 dB

GEN: genótipo; C (Controle): 0,0 MPa; DH (Déficit hídrico): -0,3 MPa; IC: índice de crescimento; IV: índice de vigor; IVC: índice de vigor corrigido. Para cada genótipo, letras minúsculas iguais na coluna significam que pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para cada potencial osmótico letras maiúsculas iguais na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Reduções nos índices relacionados ao crescimento de plântulas foram observados para algumas culturas como trigo (Dhanda et al., 2004) e gergelim (Kouighat et al., 2021). Em

algumas leguminosas, redução no IVC em função dos efeitos inibitórios do déficit hídrico foram observados para as culturas do grão-de-bico (Koskosidis et al., 2020) e lentilha (Shah et al., 2021). Esses autores atribuem os resultados observados aos efeitos do déficit hídrico na redução do comprimento dos órgãos da parte aérea e raiz das plântulas, uma vez que essas variáveis são utilizadas para o cálculo desses índices. Segundo Moayedi et al. (2010), índices como IVC são características extremamente sensíveis a condições de deficiência hídrica, como também observado nos resultados encontrados neste estudo.

Por meio da comparação dos genótipos em cada potencial osmótico, observou-se no controle, G10C e G15C com as maiores médias de forma geral para os índices de crescimento. Por outro lado, G629 e G12C apresentaram os piores desempenhos. A comparação dos genótipos, dentro do tratamento de déficit hídrico, apontou BAT477, G629 e G13D com as maiores médias para todos os índices avaliados. Por outro lado, os genótipos CAR80, G11C e G1C apresentaram os piores desempenhos, com as menores médias observadas de forma geral (Tabela 5).

Maior crescimento inicial de plântulas está relacionado com maior capacidade de aquisição de recursos do ambiente, o que pode refletir na formação das futuras plantas adultas com maior capacidade fotossintética e produtividade satisfatória da lavoura (Oliveira et al., 2015). O IC é citado por Silva et al. (2019) como variável representativa do crescimento de plântulas, assim como os demais índices avaliados neste estudo (IV e IVC). Ainda, apontam a vantagem de se utilizar estes índices em estudos de fenotipagem devido a maior facilidade para se trabalhar com muitos genótipos, assim como realizado nesta pesquisa.

Estes índices são comumente utilizados para a diferenciação de lotes de sementes quanto ao vigor (Medeiros e Pereira, 2018), porém, se mostraram eficientes para a discriminação dos genótipos avaliados quanto a tolerância a estresses abióticos, assim como realizado nesta pesquisa para a tolerância ao déficit hídrico. Carvalho et al. (2019), também em estudo com déficit hídrico induzido por PEG 6000, identificaram redução no IV para genótipos de feijão-caupi, e menor ou nenhuma redução para genótipos classificados como tolerantes.

A Figura 4 apresenta a redução relativa no tratamento com déficit hídrico (-0,3 MPa) em relação ao controle (0,0 MPa) para os genótipos classificados como tolerantes e sensíveis em função de todas as variáveis estudadas. É possível observar que as maiores reduções foram encontradas para os genótipos sensíveis (CAR80 e G11C). Para BAT477, G13D e G629 foi observado menor impacto no desempenho sob deficiência hídrica, que apresentaram menores reduções para as características avaliadas.

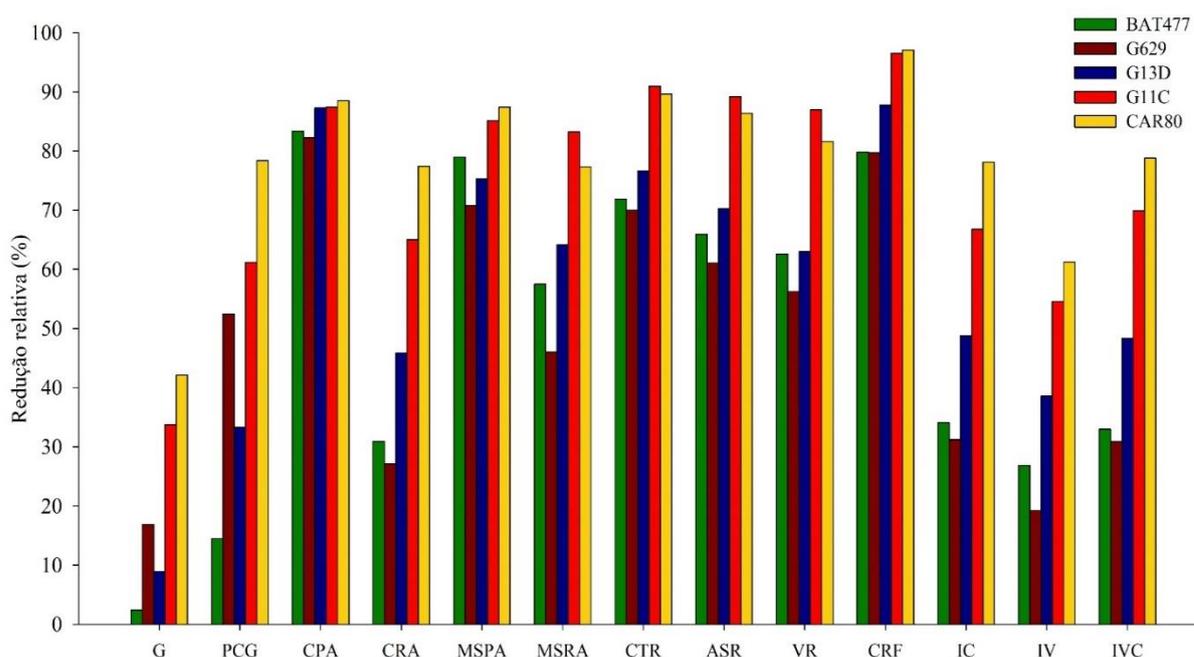


Figura 4. Redução relativa (déficit hídrico vs controle) para o desempenho germinativo e crescimento de plântulas de genótipos de feijão comum com desempenhos contrastantes quanto a tolerância a deficiência hídrica. Germinação (G); Primeira contagem de germinação (PCG); Comprimento de parte aérea (CPA); Comprimento de raiz (CRA); Matéria seca de parte aérea (MSPA); Matéria seca da raiz (MSRA); Comprimento total de raiz (CTR); Área superficial de raiz (ASR); Volume radicular (VR); Comprimento de raiz fina (CRF); Índice de crescimento (IC); Índice de vigor (IV); Índice de vigor corrigido (IVC).

Dentre as variáveis utilizadas para a caracterização, nota-se que o crescimento da parte aérea (CPA e MSPA) não apresentou grandes diferenças entre os genótipos contrastantes, ou seja, menor variação foi observada na porcentagem de redução relativa. Para se estudar o crescimento das plântulas, variáveis de comprimento da parte aérea, raiz e total e os índices obtidos a partir dessas variáveis são as mais utilizadas (Silva et al., 2019). Entretanto, mesmo sendo componentes do crescimento das plantas, as variáveis relacionadas às características de parte aérea (CPA) não apresentaram grande variação entre genótipos no presente estudo para tolerância ao déficit hídrico. Taiz e Zeiger (2017) apontam a aclimação das plântulas via maior crescimento do sistema radicular em detrimento da parte aérea, como uma resposta ao déficit hídrico. Uma vez que situações de estresse como a ocorrida fazem com que as reservas sejam redirecionadas para o crescimento do sistema radicular, esse cresce mais como estratégia de buscar água em maior profundidade no solo. Este fato também é constatado para a MSPA, sendo observado menor variabilidade entre os genótipos com desempenho contrastantes sob déficit hídrico.

(PC1); Componente principal 2 (PC2); Germinação (G); Primeira contagem de germinação (PCG); Comprimento de parte aérea (CPA); Comprimento de raiz (CRA); Matéria seca de parte aérea (MSPA); Matéria seca da raiz (MSRA); Comprimento total de raiz (CTR); Área superficial de raiz (ASR); Volume radicular (VR); Comprimento de raiz fina (CRF); Índice de crescimento (IC); Índice de vigor (IV); Índice de vigor corrigido (IVC).

É possível notar que o genótipo BAT477 se posicionou em PC1-/PC2-, em direção aos vetores das variáveis de maior contribuição para PC1. Esses vetores fazem referência as variáveis do sistema radicular, crescimento e vigor de plântulas, portanto maiores valores dessas características foram observados para este genótipo. De forma análoga, G629 e G13D também se posicionaram em direção aos vetores de maior contribuição para o PC1 e próximos a BAT477. Além destes, o genótipo G12C também se destacou na PCA. Seu posicionamento em direção aos vetores das variáveis indica maiores valores para tais. Esse comportamento possivelmente se justifica devido a utilização, na PCA, do índice de tolerância ao estresse (ITE). O ITE leva em consideração o desempenho do genótipo no ambiente de estresse em relação ao ambiente controle, G12C provavelmente sofreu menor impacto no seu desempenho sob estresse em comparação com seu desempenho em condições ideais.

Por outro lado, observa-se CAR80 e G11C, dispostos em PC1+/PC2-, posições opostas a BAT477 e aos vetores das variáveis utilizadas no estudo. Estes fatos ilustram a maior sensibilidade destes genótipos sob condição de deficiência hídrica. Assim, de forma mais visual, o comportamento diferencial dos genótipos frente ao déficit hídrico imposto é comprovado e apresenta concordância com os dados médios observados na análise fatorial.

O dendrograma obtido com base na distância euclidiana média e padronizado pelas 13 características avaliadas, agrupou os 33 genótipos em três diferentes grupos com relação ao seu desempenho sob déficit hídrico (-0,3 MPa) (Figura 6).

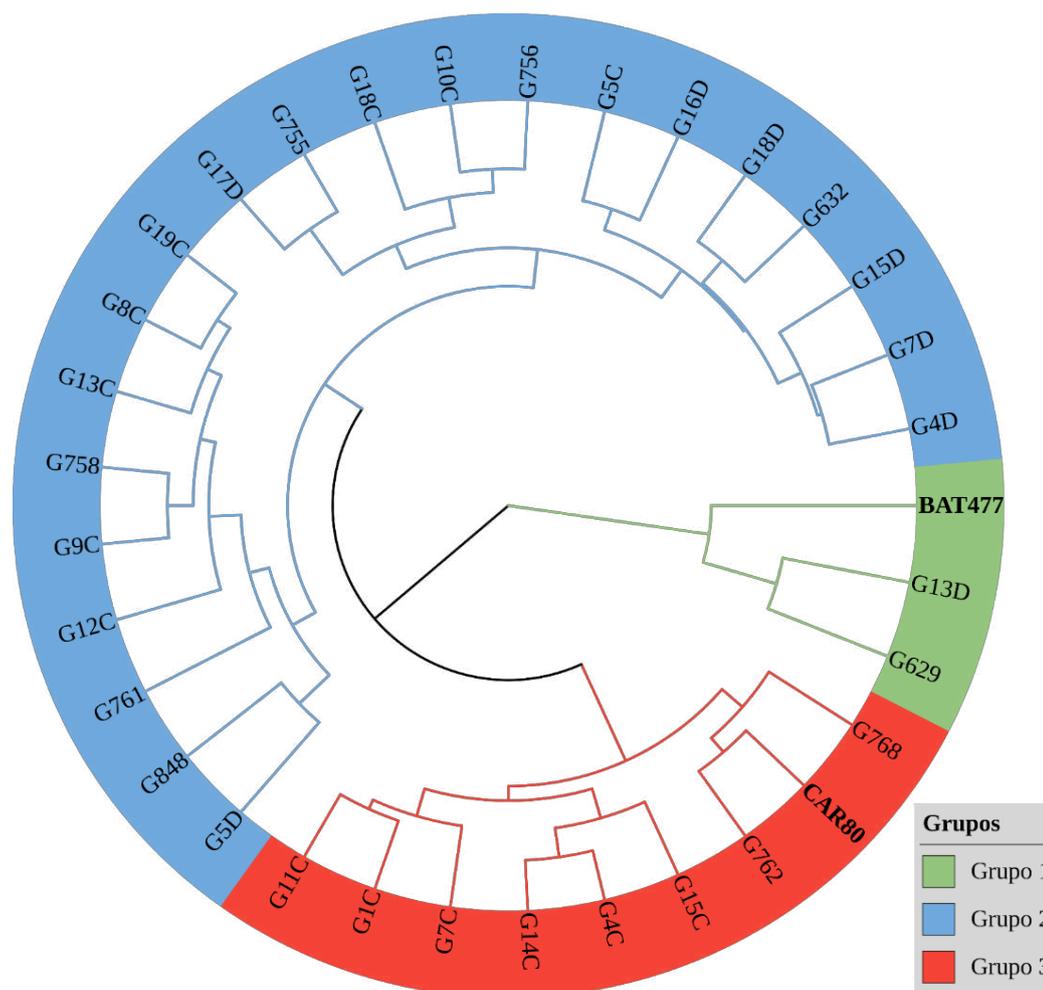


Figura 6. Dendrograma do agrupamento de 33 genótipos de feijão comum sob déficit hídrico, com base na distância euclidiana média padronizada em 13 características.

O primeiro grupo contempla os três genótipos de melhor desempenho sob deficiência hídrica (BAT477, G13D e G629). O segundo grupo compreende G5D a G4D, contendo 21 genótipos e identificado como desempenho intermediário sob déficit hídrico. Já o terceiro grupo formado, reuniu os nove genótipos restantes, estando entre eles CAR80 e G11C, que foram identificados como genótipos de menor desempenho sob condição de déficit hídrico. Os resultados encontrados para o agrupamento estão de acordo com desempenho dos genótipos avaliados na triagem para tolerância ao déficit hídrico, uma vez que concordam com o obtido por meio das análises anteriores.

Em síntese, BAT477 se destacou de forma positiva no estudo para todas as variáveis analisadas. Estes achados apontam que a tolerância a seca de BAT477 comprovada em outros estudos apenas em fases de pré-floração, floração e enchimento de grãos (Recchia et al.,2013), se manifesta também em fases iniciais do desenvolvimento, como a germinação e o crescimento

de plântulas. Isso aponta confiabilidade e oferece uma boa comparativa dos resultados obtidos para os demais genótipos avaliados. Maior desempenho germinativo, menor impacto na arquitetura do sistema radicular, bem como maior crescimento de plântulas foram observados para os genótipos classificados como tolerantes ao déficit hídrico (BAT477, G629, G13D e G12C), que geraram além disso, plântulas mais vigorosas. Ao contrário, os genótipos classificados como sensíveis (G11C e CAR80) apresentaram em média, maiores reduções nas variáveis estudadas em ambiente de déficit hídrico em comparação com os demais genótipos. Por consequência, na PCA foi possível observá-los posicionados em direções opostas e distantes a todos os vetores das variáveis analisadas, possuindo menor desempenho sob baixa disponibilidade hídrica.

Com isso confirma-se a variabilidade dentro do germoplasma avaliado quanto a tolerância a restrição hídrica, sendo possível identificar genótipos tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico em fases iniciais do desenvolvimento do feijão comum. A tolerância a seca inicial encontrada para os genótipos avaliados deve ser avaliada em outras fases críticas a seca, em busca de correlações que possibilitem utilizar a seleção precoce como ferramenta rápida e eficiente de seleção. A variabilidade encontrada pode ser utilizada em futuros cruzamentos dentro de programas de melhoramento para a tolerância a seca da cultura.

4 CONCLUSÕES

Foi identificada variabilidade para tolerância ao déficit hídrico no germoplasma de feijão comum avaliado, e que pode ser explorada por melhoristas de plantas.

Os genótipos BAT477, G629, G13D e G12C foram classificados como mais tolerantes a deficiência hídrica induzida na fase de germinação e crescimento de plântulas, enquanto os genótipos CAR80 e G11C foram classificados como mais sensíveis.

A tolerância a seca de BAT477 também foi comprovada em fases iniciais do desenvolvimento.

A maior tolerância a seca de genótipos em fases iniciais da cultura do feijão está relacionada a germinação rápida e uniforme das sementes, além de sistema radicular mais profundo e proliferativo das plântulas.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, D.J.; SANTOS, A.R. P.; PIEDADE, G. N.; FARIA, R.Q.; SILVA, E. A. A.; SARTORI, M.M.P. The Use of the Generalized Linear Model to Assess the Speed and Uniformity of Germination of Corn and Soybean Seeds. **Agronomy**, v.11, n.3, p.588, 2021.
- BENINCASA, M.M.P. Análise do crescimento em plantas - noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 412p. 2003.
- BIJU, S.; FUENTES, S.; GUPTA, D. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system. **Plant physiology and biochemistry**, v.119, p.250-264, 2017.
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S.A Cultura. In: CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão do plantio à colheita: a cultura**. Viçosa: Editora UFV, p. 9-14, 2015.
- BOUSLAMA, M.; SCHAPAUGH JR, W. T. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance 1. **Crop science**, v.24, n.5, p.933-937, 1984.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 183, 20 set. 2013b. Seção 1, p. 6-27.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- CARVALHO, M.; MATOS, M.; CASTRO, I.; MONTEIRO, E.; ROSA, E.; LINO-NETO, T.; CARNIDE, V. Screening of worldwide cowpea collection to drought tolerant at a germination stage. **Scientia horticultrae**, v.247, p.107-115, 2019.
- CREELMAN, R.A.; MASON, H.S.; BENSON, R.J.; BOYER, J.S.; MULLET, J.E. Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings: analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression. **Plant Physiology**, v.92, n.1, p.205-214, 1990.
- DEFOSSEZ, E.; PELLISSIER, L.; RASMANN, S. The unfolding of plant growth form-defence syndromes along elevation gradients. **Ecology Letters**, v.21, n.5, p.609-618, 2018.
- DHANDA, S.S.; SETHI, G.S.; BEHL, R.K. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. **Journal of agronomy and crop science**, v.190, n.1, p.6-12, 2004.
- DHARANGUTTIKAR, V.M.; BHARUD, R.W.; BORKAR, V.H. Physiological responses of chickpea genotypes for drought tolerance under induced moisture stress. **International Journal of Scientific and Research Publications**, v.5, n.9, p.1-11, 2015.
- DINNENY, J.R. Developmental responses to water and salinity in root systems. **Annual review of cell and developmental biology**, v.35, p.239-257, 2019.
- FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. Drought stress in plants: an overview. **Plant responses to drought stress**, p.1-33, 2012.

- FENTA, B.A.; BEEBE, S.E.; KUNERT, K.J.; BURRIDGE, J.D.; BARLOW, K.M.; LYNCH, J.P.; FOYER, C.H. Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. **Agronomy**, v.4, n.3, p.418-435, 2014.
- GIROTTI, L.; ALVES, J.D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A.C.S.; TOMAZONI, A.P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.192-199, 2012.
- GRZYBOWSKI, C. R. S.; SILVA, R.C.; CARVALHO, T.C.; PANOBIANCO, M. Effect of osmotic potential on genotype and vigor interaction of corn seeds. **Applied Research & Agrotechnology**, v.12, n.03, p.65-73, 2019.
- GUPTA, A.; RICO-MEDINA, A.; CAÑO-DELGADO, A.I. The physiology of plant responses to drought. **Science**, v.368, n.6488, p.266-269, 2020.
- HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. (ed). Handbook of vigour test methods. Zurich, International Seed Testing Association. 3^a ed. 117p., 1995.
- HELLAL, F.A.; EL-SHABRAWI, H.M.; ABD EL-HADY, M.; KHATAB, I.A.; EL-SAYED, S.A.A.; ABDELLY, C. Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical constituents and seedling growth of Egyptian barley cultivars. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v.16, n.1, p.203-212, 2018.
- HENRY, A.; CAL, A.J.; BATOTO, T.C.; TORRES, R.O.; SERRAJ, R. Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought. **Journal of experimental botany**, v.63, n.13, p.4751-4763, 2012.
- HO, M.D.; ROSAS, J.C.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. **Functional plant biology**, v.32, n.8, p.737-748, 2005.
- HSIAO, T. C.; XU, L. K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of experimental botany**, v.51, n.350, p.1595-1616, 2000.
- JABBARI, H.; AKBARI, G.A.; SIMA, N.A.K.K.; RAD, A.H.S.; ALAHDADI, I.; HAMED, A.; SHARIATPANAH, M.E. Relationships between seedling establishment and soil moisture content for winter and spring rapeseed genotypes. **Industrial Crops and Products**, v.49, p.177-187, 2013.
- JAJARMI, V. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v.49, p.105-106, 2009.
- JIMENEZ-GALINDO, J.C.; ALVAREZ-IGLESIAS, L.; REVILLA-TEMINO, P.; JACINTO-SOTO, R.; GARCIA-DOMINGUEZ, L.E.; DE LA FUENTE-MARTINEZ, M.; OSORNO, J.M. Screening for Drought Tolerance in Tepary and Common Bean Based on Osmotic Potential Assays. **Plant**, v.6, n.2, p.24, 2018.
- JUNG, J.K.; MCCOUCH, S. Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 186, 2013.
- KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. **R package version**, v.1, n.3, 2016.

KHAN, M.N.; ZHANG, J.; LUO, T.; LIU, J.; NI, F.; RIZWAN, M.; FAHAD, S.; HU, L. Morpho-physiological and biochemical responses of tolerant and sensitive rapeseed cultivars to drought stress during early seedling growth stage. **Acta physiologiae plantarum**, v.41, n.2, p.25, 2019.

KOSKOSIDIS, A.; EBRAHIM, K.H.A.H.; MAVROMATIS, A.; PAVLI, O.; VLACHOSTERGIOS, D.N. Effect of PEG-induced drought stress on germination of ten chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.48, n.1, p.294-304, 2020.

KOUIGHAT, M.; HANINE, H.; EL FECHTALI, M.; NABLOUSSI, A. First Report of Sesame Mutants Tolerant to Severe Drought Stress during Germination and Early Seedling Growth Stages. **Plants**, v.10, n.6, p.1166, 2021.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES, F.G.; JR.; NAKAGAWA, J. (2020). Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In F. C. Krzyzanowski., R. D. Vieira., J. Marcos Fo. & J. B. França-Neto (Eds.), *Vigor de sementes: conceitos e testes* (pp. 79-140). Londrina, PR: ABRATES.

LANDI, P.; GIULIANI, S.; SALVI, S.; FERRI, M.; TUBEROSA, R.; SANGUINETI, M.C. Characterization of root-yield-1.06, a major constitutive QTL for root and agronomic traits in maize across water regimes. **Journal of experimental botany**, v.61, n.13, p.3553-3562, 2010.

LYNCH, J.P. Lynch Rightsizing root phenotypes for drought resistance. **Journal of Experimental Botany**, v.69, n.13, p.3279-3292, 2018.

MACHADO, F.H.B.; DAVID, A.M.S.S.; CANGUSSÚ, L.V.S.; FIGUEIREDO, J.C.; AMARO, H.T.R. Physiological quality of seed and seedling performance of crambe genotypes under water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.21, p.175-179, 2017.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MAUREL, C.; NACRY, P. Root architecture and hydraulics converge for acclimation to changing water availability. **Nature plants**, v.6, n.7, p.744-749, 2020.

MCADAM, S.A.; MANZI, M.; ROSS, J.J.; BRODRIBB, T.J.; GÓMEZ-CADENAS, A. Uprooting an abscisic acid paradigm: shoots are the primary source. **Plant signaling & behavior**, v.11, n.6, p.652-659, 2016.

MCCLEAN, P.E.; BURRIDGE, J.; BEEBE, S.; RAO, I.M.; PORCH, T.G. Crop improvement in the era of climate change: an integrated, multi-disciplinary approach for common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Functional Plant Biology**, v.38, n.12, p.927-933, 2011.

MEDEIROS, A.D.; PEREIRA, M.D. SAPL®: a free software for determining the physiological potential in soybean seeds1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.48, p.222-228, 2018.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. **The Plant Cell**, v.27, n.1, p.64-70, 2015.

- MOAYEDI, A.A.; BOYCE, A.N.; BARAKBAH, S.S. The performance of durum and bread wheat genotypes associated with yield and yield component under different water deficit conditions. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.4, n.1, p.106-113, 2010.
- MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; ANASTASI, U.; SANTONOCETO, C.; MAGGIO, A. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.354-363, 2014.
- NASCIMENTO, M.D.G.R.; SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; RODRIGUES, C.M. Physiological potential of *Phaseolus lunatus* L. seeds subjected to water stress at different temperatures. **Semina: Ciências Agrárias**, v.40, n.6, p.2877-2890, 2019.
- OLIVEIRA, S.; LEMES, E. S.; MENEGHELLO, G.E.; TAVARES, L.C.; BARROS, A.C.A. Silicon application to the soil on soybean yield and seed physiological quality. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.5, p.3029-3042, 2015.
- PEREIRA, M.R.R.; MARTINS, C.C.; SOUZA, G.S.F.; MARTINS, D. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis*. **Bioscience Journal**, v.28, p.537-545, 2012.
- PERRY, D. A. Seed vigour and field establishment. **Horticulture Abstracts**, v.42, p.334-342, 1972.
- POLANIA, J.A.; CHATER, C.C.; COVARRUBIAS, A.A.; RAO, I.M. Phaseolus species responses and tolerance to drought. In: **The Plant Family Fabaceae**. Springer, Singapore, 2020. p. 319-336.
- PRAZERES, C.S.; COELHO, C.M.M.; SOUZA, C.A. Biochemical compounds and enzymatic systems related to tolerance to water deficit of maize seedlings. **Plant Physiology Reports**, v. 26, n. 3, p. 402-411, 2021.
- PRINCE, S.J.; MUTAVA, R.N.; PEGORARO, C.; OLIVEIRA, A.C.; NGUYEN, H.T. Root characters. In: **Genomics and breeding for climate-resilient crops**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. p. 67-131.
- R CORE TEAM. R Development Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2021.
- RECCHIA, G.H.; CALDAS, D.G.G.; BERALDO, A.L.A.; DA SILVA, M.J.; TSAI, S.M. Transcriptional analysis of drought-induced genes in the roots of a tolerant genotype of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n.4, p.7155-7179, 2013.
- ROBBINS, N.E.; DINNENY, J.R. The divining root: moisture-driven responses of roots at the micro-and macro-scale. **Journal of Experimental Botany**, v.66, n.8, p.2145-2154, 2015.
- RUTA, N.; STAMP, P.; LIEDGENS, M.; FRACHEBOUD, Y.; HUND, A. Collocations of QTLs for seedling traits and yield components of tropical maize under water stress conditions. **Crop science**, v.50, n.4, p.1385-1392, 2010.
- SAKO, Y.; MCDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigor assessment. **Seed Science and Technology**, v.29, n.3, p.625-636, 2001.

- SHAH, W.; ULLAH, S.; ALI, S.; IDREES, M.; KHAN, M.N.; ALI, K.; KHAN, A.; ALI, M.; YOUNAS, F. Effect of exogenous alpha-tocopherol on physio-biochemical attributes and agronomic performance of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under drought stress. **PloS one**, v.16, n.8, p.e0248200, 2021.
- SHARMA, S.; CARENA, M.J. A method for high throughput maize phenotyping of root traits for short-season drought tolerance. **Crop Science**, v.56, n.6, p.2996-3004, 2016.
- SHIVHARE, R.; LATA, C. Assessment of pearl millet genotypes for drought stress tolerance at early and late seedling stages. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.41, n.3, p.1-10, 2019.
- SILVA, L.J.D.; MEDEIROS, A.D.D.; OLIVEIRA, A.M.S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v.41, p.250-257, 2019.
- SILVA, R.C.; GRZYBOWSKI, C.R.S.; PANOBIANCO, M. Vigor de sementes de milho: Influência no desenvolvimento de plântulas em condições de estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, p.491-499, 2016.
- STROCK, C.F.; BURRIDGE, J.; MASSAS, A.S.; BEAVER, J.; BEEBE, S.; CAMILO, S.A.; FOURIE, D.; JOCHUA, C.; MIGUEL, M.; MIKLAS, P.N.; MNDOLWA, E.; NCHIMBI-MSOLLA, S.; POLANIA, J.; PORCH, T.G.; ROSAS, J.C.; TRAPP, J.J.; LYNCH, J. P. Seedling root architecture and its relationship with seed yield across diverse environments in *Phaseolus vulgaris*. **Field Crops Research**, v.237, p.53-64, 2019.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 722p.
- TIBSHIRANI, R.; WALTHER, G.; HASTIE, T. Estimating the number of clusters in a data set via the gap statistic. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v.63, n.2, p.411-423, 2001.
- ULLAH, A.; MANGHWAR, H.; SHABAN, M.; KHAN, A.H.; AKBAR, A.; ALI, U.; ALI, E.; FAHAD, S. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, n.33, p.33103-33118, 2018.
- VARMUZA, K.; FILZMOSE, P. **Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics**. CRC press, 2009.
- VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES – Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1999. P. 1–26.
- VILLELA, F.A.; DONI-FILHO, L.; SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.
- WASAYA, A.; ZHANG, X.; FANG, Q.; YAN, Z. Root phenotyping for drought tolerance: a review. **Agronomy**, v.8, n.11, p.241, 2018.
- WHITE, J.W.; CASTILLO, J.A. Relative effect of root and shoot genotypes on yield of common bean under drought stress. **Crop Science**, v.29, n.2, p.360-362, 1989.

XU, W.; CUI, K.; XU, A.; NIE, L.; HUANG, J.; PENG, S. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. **Acta physiologiae plantarum**, v.37, n.2, p.9, 2015.

YE, H.; ROORKIWAL, M.; VALLIYODAN, B.; ZHOU, L.; CHEN, P.; VARSHNEY, R.K.; NGUYEN, H.T. Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. **Journal of Experimental Botany**, v.69, n.13, p.3267-3277, 2018.

YORK, L.M.; NORD, E.; LYNCH, J. Integration of root phenes for soil resource acquisition. **Frontiers in Plant Science**, v.4, p.355, 2013.

ZHU, J.; INGRAM, P.A.; BENFEY, P.N.; ELICH, T. From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. **Current opinion in plant biology**, v.14, n.3, p.310-317, 2011.

GUILHERME FONTES VALORY GAMA

Capítulo 2: Características morfo-fisiológicas e bioquímicas relacionadas a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial em genótipos de feijoeiro comum

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

RESUMO

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2023. **Características morfo-fisiológicas e bioquímicas relacionadas a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial em genótipos de feijoeiro comum.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias e José Eustáquio de Souza Carneiro.

A deficiência hídrica em fases iniciais do ciclo de vida das culturas prejudica a germinação e o estabelecimento das plântulas no campo, diminuindo o potencial produtivo. O estresse oxidativo gerado sob baixa disponibilidade hídrica é o principal responsável pelos danos em componentes celulares, os quais reduzem a germinação das sementes e o crescimento das plântulas. Este trabalho teve por objetivo caracterizar genótipos de feijão com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico quanto a atividade de enzimas antioxidantes e o conteúdo de prolina, para verificar as respostas de tolerância ao déficit hídrico. Foram utilizadas sementes de seis genótipos de feijão comum, sendo quatro genótipos com maior nível de tolerância ao déficit hídrico (BAT477, G629, G13D e G12C) e dois genótipos com menor nível de tolerância (CAR80 e G11C). As sementes foram submetidas ao potencial osmótico de -0,3 MPa, utilizando PEG 6000 durante o processo de germinação. Para o controle, foi utilizado apenas água destilada. As alterações morfo-fisiológicas foram avaliadas por meio dos testes de germinação e primeira contagem de germinação, além do crescimento das plântulas por meio da mensuração do comprimento e matéria seca da parte aérea e raiz. Para evidenciar as respostas bioquímicas de tolerância ao déficit hídrico foram analisadas a atividade das enzimas SOD, CAT, APX e POX e o conteúdo do aminoácido prolina. O déficit hídrico reduziu a porcentagem de germinação, velocidade de germinação e crescimento de plântulas de todos os genótipos. Os genótipos com maior nível de tolerância, BAT477 e G13D, apresentaram desempenho germinativo superior dentre os genótipos estudados. Independentemente do nível de tolerância dos genótipos, o déficit hídrico reduziu o crescimento das plântulas. Maior atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo e maior acúmulo de prolina foram observados nos genótipos com maior nível de tolerância ao déficit hídrico. Os genótipos BAT477 e G12C além de maior conteúdo de prolina, apresentam distintas estratégias de tolerância ao estresse. Enquanto BAT477 aumenta a atividade da enzima CAT sob déficit hídrico, G12C mostra maiores aumentos para APX. A maior sensibilidade ao déficit hídrico para CAR80 e G11C foi confirmada com os menores valores obtidos de germinação e crescimento de plântulas, menor acúmulo de prolina e menor atividade enzimática sob estresse.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Enzimas antioxidantes. Prolina

ABSTRACT

GAMA, Guilherme Fontes Valory, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2023. **Morpho-physiological and biochemical characteristics related to water deficit tolerance during germination and initial growth in common bean genotypes.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias and José Eustáquio de Souza Carneiro.

Water deficit in the early stages of the life cycle of crops impairs germination and establishment of seedlings in the field, reducing the productive potential. Oxidative stress generated under low water availability is the main factor responsible for damage to cellular components, which reduce seed germination and seedling growth. This work aimed to characterize bean genotypes with contrasting levels of tolerance to water deficit in terms of antioxidant enzyme activity and proline content, in order to verify tolerance responses to water deficit. Seeds of six common bean genotypes were used, four genotypes with a higher level of tolerance to water deficit (BAT477, G629, G13D and G12C) and two genotypes with a lower level of tolerance (CAR80 and G11C). The seeds were subjected to an osmotic potential of -0.3 MPa, using PEG 6000 during the germination process. For the control, only distilled water was used. The morphophysiological alterations were verified by the germination tests and the first count of germination, in addition to the growth of the seedlings by measuring the length and dry matter of the shoot and root. To demonstrate the biochemical responses of tolerance to water deficit, the activity of the enzymes SOD, CAT, APX and POX and the content of the amino acid proline were analyzed. Water deficit reduced the germination percentage, germination speed and seedling growth of all genotypes. The genotypes with the highest level of tolerance, BAT477 and G13D, showed superior germination performance among the studied genotypes. Regardless of the tolerance level of the genotypes, water deficit reduced seedling growth. Greater activity of enzymes of the antioxidative defense system and greater accumulation of proline were observed in genotypes with a higher level of tolerance to water deficit. The BAT477 and G12C genotypes, in addition to higher proline content, have different stress tolerance strategies. While BAT477 increases CAT enzyme activity under water deficit, G12C shows greater increases for APX. The greater sensitivity to water deficit for CAR80 and G11C was confirmed with the lowest values obtained for germination and seedling growth, lower proline accumulation and lower enzymatic activity in the study under stress.

Keywords: Oxidative stress. Antioxidant enzymes. Proline

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum é uma das mais importantes leguminosas diretamente consumidas no mundo e é considerado um alimento base na dieta de países em desenvolvimento, principalmente da América Latina e África (Gonçalves., 2015; Polania et al., 2016). Grande parte da área cultivada de feijão comum no mundo se faz em sistema de sequeiro e está sujeita a episódios de seca, que consiste em um dos fatores abióticos mais prejudiciais a sua produtividade (Wu et al., 2021). Seca, altas temperaturas e baixa disponibilidade de nutrientes no solo, são condições abióticas que criam um ambiente desfavorável capaz de provocar perdas de até 80% no feijão sob cultivo de sequeiro (Castiano et al., 2023).

No Brasil, o feijão comum é cultivado em três safras distintas, sendo duas destas em sistema de sequeiro, nas quais o feijoeiro depende exclusivamente das precipitações naturais que cada vez mais se apresentam de forma irregular e geram episódios de deficiência hídrica (Lanna et al., 2018). Este fato se torna ainda mais relevante devido às mudanças climáticas, sendo a seca um dos principais estresses responsáveis pelo menor rendimento de diversas culturas agrícolas (Zandalinas et al., 2021), incluindo o feijão comum (Castiano et al., 2023).

A deficiência hídrica afeta o feijoeiro em diferentes fases do seu ciclo, e o desenvolvimento inicial definido pela germinação (V0) e crescimento de plântulas (V1), também é prejudicado por este estresse. De acordo com Oliveira et al. (2018) durante estas fases, o déficit hídrico reduz a velocidade de germinação, aumentando o tempo de exposição das sementes recém depositadas no solo a patógenos e oscilações de temperatura e umidade. Isto promove a deterioração das sementes recém depositadas no solo, além de reduzir o crescimento das plântulas e a emergência futura.

A deficiência hídrica é capaz de gerar estresse oxidativo devido ao aumento na produção de EROs (Sarker e Oba, 2018). O estresse oxidativo é considerado a resposta em comum aos estresses ambientais enfrentados pelas plantas e é caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de agentes oxidantes (superacumulação), principalmente EROs, e os mecanismos antioxidantes (Hasanuzzaman et al., 2020).

Em condições de déficit hídrico no desenvolvimento inicial das plantas, as EROs geram estresse oxidativo e os processos de germinação e crescimento de plântulas são afetados (Khan et al., 2019; Liu et al., 2019). Para lidar com isto, as plantas contam com mecanismos antioxidantes enzimáticos que incluem as enzimas SOD, CAT, POX, APX e outras, que atuam detoxificando as células do excesso de EROs (Mahmood et al., 2020).

Na cultura do feijão, inúmeros são os experimentos com avaliações genotípicas e fenotípicas destinadas a explorar germoplasma em busca de cultivares mais adaptadas às mudanças climáticas (Narayana et al., 2020). No entanto, são escassas as informações acerca dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos relacionados a tolerância a deficiência hídrica durante as fases de germinação e crescimento de plântulas. Ademais, no feijoeiro, poucos são os locos genéticos e QTLs atualmente relacionados a germinação das sementes sob deficiência hídrica (Wu et al., 2021). Koskosidis et al. (2020) afirmam que seleções em fases curtas como estas (germinação e crescimento inicial de plântulas), podem ser feitas em condições de laboratório com grande vantagem em relação ao tempo de resposta. Além disso, são fases que permitem a classificação de genótipos para a tolerância a seca com segurança e possuem boa correlação com o desempenho dos genótipos em campo.

Portanto, a avaliação das alterações bioquímicas envolvidas no mecanismo de defesa antioxidante, como a avaliação da atividade enzimática, pode ser uma importante estratégia para seleção de genótipos para tolerância ao déficit hídrico (Hasanuzzaman et al., 2018; Mahmood et al., 2020).

Além das atividades de enzimas antioxidantes, a quantificação de osmólitos como glicina betaína, açúcares solúveis e prolina apresenta relação para a seleção de genótipos tolerantes à seca (Ozturk et al., 2021). O acúmulo desses compostos sob condições de déficit hídrico está relacionado de maneira geral aos mecanismos de tolerância como ajustes osmóticos e proteção de estruturas celulares (Ashraf e Foolad, 2007; Singh et al., 2015; Blum, 2017).

Neste contexto, a prolina desempenha diversas funções nas células como aumento da integridade de membranas e proteínas, ação antioxidante e promoção do equilíbrio osmótico intracelular (Szabados e Savoure, 2010; Wang et al., 2019; Jain et al., 2019). O papel da prolina como promotor de tolerância à seca já foi demonstrado em algumas espécies. Wang et al. (2019) observaram maior conteúdo de prolina em plantas de feijão sob déficit hídrico e concluíram ser uma substância indicadora importante para ser utilizada em programas de melhoramento para situações de seca. Em plantas de milho sob deficiência hídrica, Mohammadkhani e Heidari (2008) constataram aumentos nos teores de prolina, apontando este osmólito como potencial responsável por reduzir efeitos da restrição hídrica.

Entretanto, poucos são os estudos que utilizam a quantificação do conteúdo de prolina em fase de plântulas para avaliação de germoplasma tolerante ao déficit hídrico. Carvalho et al. (2019) avaliaram 58 genótipos de feijão caupi sob deficiência hídrica e observaram aumentos no conteúdo de prolina na raiz de plântulas de genótipos em condições de estresse quando comparado com o controle.

Por fim, a atividade de enzimas antioxidantes e a quantificação do conteúdo de prolina durante a germinação e o crescimento de plântulas, podem ser metodologias eficientes para identificar genótipos de feijão comum tolerantes a deficiência hídrica. Desta forma, a presente pesquisa visou investigar os mecanismos fisiológicos e bioquímicas envolvidos na resposta diferencial em plântulas de genótipos de feijão comum contrastantes para tolerância a seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foram utilizados genótipos de feijão comum classificados conforme resultados obtidos em experimento prévio com maior (BAT477, G629, G13D, G12C) e menor nível de tolerância (CAR80 e G11C) ao déficit hídrico (Capítulo I). Os genótipos BAT477 e CAR80, assim como definidos em literatura, foram tratados no estudo como referências tolerante e sensível ao estresse, respectivamente (Recchia et al., 2013).

Os seis genótipos foram avaliados quanto a características morfo-fisiológicas e bioquímicas sob dois potenciais osmóticos: 0,0 MPa (controle) e -0,3 MPa (déficit hídrico). Para indução do déficit hídrico foi utilizado PEG 6000 e o potencial osmótico foi definido com base em experimento piloto com diferentes genótipos. Este potencial possibilitou redução significativa na germinação e crescimento de plântulas sem impossibilitar a discriminação dos diferentes genótipos avaliados (Coelho et al., 2010).

2.1 Germinação e crescimento de plântulas de feijão sob déficit hídrico

As sementes dos genótipos foram multiplicadas em campo, na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Diogo Alves de Melo do Departamento de Agronomia da UFV. A adubação e os tratos culturais foram realizados seguindo as recomendações para a cultura (Borém e Carneiro, 2015). Após a colheita, as sementes foram secas em estufa com circulação de ar forçada regulada a 30 °C até atingirem teor de água de 11%, que foi determinado pelo método da estufa (105 °C) (Brasil, 2009). Posteriormente, as sementes dos seis genótipos foram submetidas aos seguintes testes:

2.1.1 Germinação e primeira contagem de germinação

Quatro repetições de 50 sementes foram dispostas em rolos de papel toalha umedecidos com 2,5 vezes o peso do papel seco com solução de PEG 6000 no potencial osmótico de -0,3 MPa (Villela et al., 1991). Para o controle, o papel foi umedecido com água destilada. Os rolos foram mantidos em germinador a 25 °C. As avaliações consistiram na contagem do número de

plântulas normais aos cinco (primeira contagem de germinação) e nove dias (contagem final) após o início do teste (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

2.1.2 Comprimento de parte aérea e raiz

Quatro repetições de 20 sementes foram colocadas para germinar conforme metodologia descrita para o teste de germinação. Aos cinco dias, as plântulas foram escaneadas por meio de um escâner (HP Scanjet 200) gerando imagens com 200 dpi de resolução. O comprimento das plântulas foi avaliado por meio de análise de imagens utilizando-se o software ImageJ®. Foi realizada a calibração previa da escala das imagens com auxílio de uma régua graduada. O hipocótilo e a radícula foram demarcados de forma individualizada computando-se seus comprimentos. Os resultados foram expressos em cm plântula⁻¹ (Krzyzanowski et al., 2020).

2.1.3 Matéria seca de parte aérea e raiz

Após a obtenção das imagens para determinação do comprimento, a parte aérea e raiz das plântulas foram separadas e colocadas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C, por 72 horas. Em seguida, o material vegetal foi pesado em balança analítica e a matéria seca determinada e expressa em mg plântula⁻¹ (Krzyzanowski et al., 2020).

2.2 Atividade de enzimas antioxidantes e conteúdo de prolina

Para as avaliações bioquímicas foram utilizadas plântulas inteiras de seis dias (parte aérea e raiz), obtidas seguindo a mesma metodologia utilizada para o teste de germinação. Após este período, o material vegetal, excluindo os cotilédones, foi coletado, liofilizado e moído para que as seguintes determinações fossem realizadas:

2.2.1 Extração e determinação da atividade enzimática

Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos pela homogeneização de quatro repetições de 100 mg de material vegetal liofilizado com 2 mL do meio de extração, constituído de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8; ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM; fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto et al., 1999). O homogeneizado foi centrifugado a 14.000 g, por 15 min, a 4 °C.

2.2.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada pela adição de 150 μL do extrato enzimático bruto a 2,85 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 7,8); metionina (13 mM); azul de p-nitro tetrazólio (NBT) (75 μM); EDTA (0,1 mM) e riboflavina (2 μM) (Del Longo et al., 1993). A reação foi conduzida a 25 °C, em câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida no interior de uma caixa coberta com papel alumínio. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, teve sua medição feita pela absorbância a 560 nm. O valor da absorbância de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual período, serviu como branco e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação (Giannopolitis e Ries, 1977). Uma unidade da SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971). O resultado foi expresso em $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

2.2.3 Determinação da atividade da enzima catalase (CAT)

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 50 μL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0) e H_2O_2 (12,5 mM) (Havir e Mchale, 1987). O decréscimo na absorbância a 240 nm, à temperatura de 25 °C foi medido no primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Anderson et al., 1995) e o resultado expresso em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína.

2.2.4 Determinação da atividade da enzima peroxidase (POX)

A atividade da peroxidase foi determinada pela adição de 50 μL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (25 mM, pH 6,8); guaiacol (20 mM) e H_2O_2 (20 mM) (Kar e Mishra, 1976). A produção de purpurogalina foi determinada pelo incremento da absorbância a 420 nm, a 25 °C, durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,47 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955) e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

2.2.5 Determinação da atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX)

A atividade da APX foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8); ácido ascórbico (0,25 mM); EDTA (0,1 mM) e H_2O_2 (0,3 mM). O decréscimo na absorbância a 210

nm, a 25 °C, foi determinado durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar $2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Nakano e Asada, 1981), e o resultado expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

2.2.6 Proteínas totais

O teor de proteínas totais foi determinado conforme Bradford (1976), sendo utilizado como padrão albumina sérica bovina (BSA). Foram utilizados 10 μL do extrato enzimático adicionado a 1 mL do reagente de Bradford e 0,990 mL de água destilada, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 595 nm.

2.2.7 Conteúdo de Prolina

Aproximadamente 10 mg de material liofilizado foram adicionados em tubo de centrifugação rosqueável de 2 mL, adicionada solução extratora com 700 μL de metanol 100%, agitadas a 500 rpm por 20 minutos, a 80 °C, centrifugadas a 13.300 rpm por 15 minutos, a 4 °C. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos de centrifugação de 2 mL e adicionado 375 μL de clorofórmio (CHCl_3) e 750 μL de água ultrapura e centrifugados a 13.300 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. A camada superior (fase polar) foi recolhida, aproximadamente 1 mL. Em seguida, 50 μL desse extrato metanólico foi reagido com 150 μL da mistura de nihidrina (1% p/v), etanol (70 % v/v) e ácido acético (20% v/v), como descrito por Carillo e Gibbon (2011). A mistura reacional foi então incubada a 95 °C durante 20 min, arrefecida à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada a 520 nm por meio de um leitor de microplaca e o resultado expresso em $\mu\text{mol de prolina g}^{-1} \text{ MS}$.

2.3 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial (6 x 2), com quatro repetições. Após a validação da normalidade dos erros e homogeneidade de variância, respectivamente pelos testes de Kolmogorov Smirnov e Levene, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Quando não validada as pressuposições, os dados foram transformados utilizando a função raiz quadrada. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Todas as características foram submetidas a análise multivariada de componentes principais. Para tal foi utilizado o índice de tolerância ao estresse (ITE), adaptado de Bouslama e Schapaugh (1984), para todas as variáveis utilizadas no estudo. Este índice apresenta a seguinte fórmula:

$$ITE = \frac{m_e}{m_c} \times 100$$

Em que: m_e e m_c representam a média da variável em questão no potencial -0,3 MPa (déficit hídrico) e no controle (0,0 Mpa), respectivamente.

Foi obtida uma matriz “n x p”, onde “n” corresponde ao número de genótipos (n = 6) e “p” o número de variáveis (p = 11). Os autovalores e autovetores foram calculados a partir das matrizes de covariância e plotados em gráficos bidimensionais (diagrama de ordenação de categorias e círculo de correlações), gerados a partir do pacote Factoextra (Kassambara e Mundt, 2016). Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (R Core Team, 2022).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou interação significativa ($p < 0,05$) entre os genótipos (G) e os potenciais osmóticos (P) para todas as variáveis avaliadas no estudo (Tabela 6). Desta forma, procedeu-se ao desdobramento da interação G x P. A comparação das médias dos genótipos foi realizada para cada nível de potencial osmótico, bem como a comparação entre as médias dos potenciais osmóticos dentro de cada um dos seis genótipos avaliados.

Tabela 6. Resumo da análise de variância para características morfo-fisiológicas e bioquímicas de genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos.

FV	GL	GER	PCG	CPA	CRA	MSPA	MSRA	SOD ¹	CAT ¹	POX ¹	APX	CPL
Quadrado médio												
G	5	492,22*	1051,1*	1,38*	8,052*	20,0*	1,508*	0,4589*	2,6608*	4,2059*	25256*	89,0*
P	1	3120,19*	20750,1*	368,40*	238,089*	4466,6*	139,579*	4,7268*	13,2765*	21,0859*	65482*	23714,8*
G x P	5	285,89*	710,3*	1,06*	10,979*	28,8*	2,667*	0,2311*	3,2314*	0,8658*	20012*	91,1*
Res	36	28,15	48,1	0,31	0,661	4,3	0,293	0,0211	0,2306	0,3169	1905	26,5
CV (%)		7,35	11,74	15,05	11,8	13,73	15,13	10,84	14,54	23,35	25,6	8,83

FV – Fonte de variação; GL – Grau de liberdade; G – Genótipo; P – Potencial osmótico; GER – Germinação (%); PCG – Primeira contagem de germinação (%); CPA – Comprimento de parte aérea (cm plântula⁻¹); CRA – Comprimento de raiz (cm plântula⁻¹); MSPA – Matéria seca de parte aérea (mg plântula⁻¹); MSRA – Matéria seca de raiz (mg plântula⁻¹); SOD – Superóxido dismutase (U min⁻¹ mg⁻¹ proteína); CAT – Catalase (μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína); POX – Peroxidase (μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína); APX – Peroxidase do ascorbato (nmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína); CPL – Conteúdo de prolina (μmol g⁻¹ MS); CV - Coeficiente de variação. *significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por meio da função raiz quadrada de Y.

Não foi observada diferença significativa entre os genótipos em relação a germinação no controle (0,0 MPa), sendo observado valores entre 75 e 86%, para os genótipos G12C e CAR80, respectivamente (Figura 7A). No tratamento de déficit hídrico (-0,3 MPa), maior germinação das sementes foi observada para o genótipo BAT477 (Figura 7A). As menores médias de germinação foram constatadas para os genótipos G11C e para a referência sensível ao déficit hídrico (CAR80). Ao comparar a germinação entre os potenciais osmóticos, não foi observada diferença significativa entre os genótipos BAT477 e G13D. Entretanto, para os demais genótipos, o potencial osmótico -0,3 MPa reduziu a germinação em comparação com o controle.

Para a primeira contagem do teste de germinação, também não foi observada diferença entre os genótipos dentro do potencial de 0,0 MPa (Figura 7B). No potencial osmótico de -0,3 MPa, a maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem foi observada para o genótipo BAT477, seguido dos genótipos G13D e G629. Os genótipos G12C, G11C e CAR80 apresentaram menor germinação na primeira contagem, indicando germinação mais lenta que os demais genótipos avaliados. Em geral, a velocidade de germinação das sementes de todos os genótipos diminuiu com a imposição do déficit hídrico (-0,3 MPa), sendo observado menores médias sob esse potencial (Figura 7B).

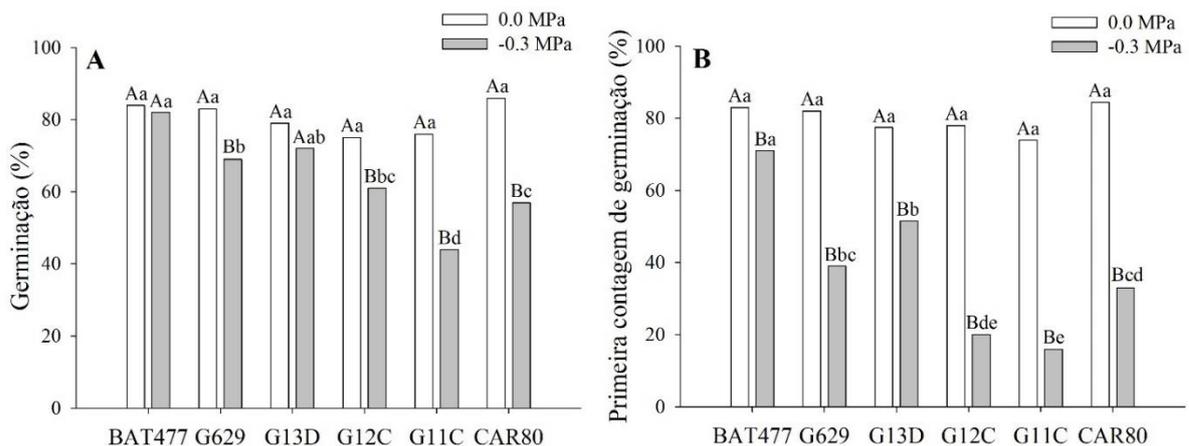


Figura 7. Germinação (A) e primeira contagem de germinação (B) de genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos. Médias seguidas com a mesma letra, maiúsculas entre os potenciais osmóticos e minúscula entre os genótipos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A água é essencial para o processo germinativo, pois reações enzimáticas, transporte de reservas, reações hidrolíticas envolvendo proteínas, lipídios e carboidratos, são eventos presentes na germinação com alta dependência da disponibilidade hídrica (Białecka e Kępczyński, 2010; Bewley et al., 2013). A velocidade de germinação está relacionada com o sucesso do cultivo em estádios iniciais do ciclo de vida, sendo que a germinação mais rápida aumenta a chance de sobrevivência devido a exploração de recursos do ambiente e estabelecimento das plântulas no campo (Wijewardana et al., 2018; Pires et al., 2017). Conforme observado neste estudo, em situações de estresse, as sementes demoram mais para germinar, o que aumenta seu período sob tal condição, além de estarem expostas aos efeitos da deterioração que prejudicam a emergência das plântulas em campo (Finch-Savage e Bassel, 2016).

Wijewardana et al. (2018) avaliaram a germinação de diferentes cultivares de soja e observaram para todos os genótipos reduções drásticas nas porcentagens e taxa de germinação das sementes com a redução do potencial osmótico. O genótipo descrito por esses autores com maior tolerância à seca apresentou maior e mais rápida germinação sob déficit hídrico, o que está de acordo com os resultados observados nesta pesquisa em função dos níveis de tolerância a seca diferencial entre os genótipos avaliados.

De forma geral, o déficit hídrico reduziu o crescimento das plântulas de todos os genótipos avaliados (Figura 8). Diferença estatística entre os potenciais osmóticos foram observadas para todas as variáveis de crescimento de plântulas, sendo as menores médias observadas sob condições de déficit hídrico. Paiva et al. (2018) citam que a redução do crescimento de plântulas sob déficit hídrico é resultado da reduzida atividade enzimática relacionada a mobilização das reservas para o crescimento do eixo embrionário e, a menor expansão celular que diminui o crescimento dos tecidos.

O crescimento da parte aérea (CPA e MSPA) não diferiu entre os genótipos sob déficit hídrico (Figura 8A e C). Além disso, se mostrou mais sensível ao déficit hídrico em comparação com a raiz, devido as maiores reduções observadas. Em relação ao CRA e a MSRA, foi possível observar para os genótipos com maior nível de tolerância, maior investimento no sistema radicular sob déficit hídrico e maior comprimento e acúmulo de matéria seca no sistema radicular (Figura 8B e D). Koskosidis et al. (2020) também observaram diferenças entre o crescimento da parte aérea e raiz na cultura do grão-de-bico sob estresse hídrico e maior susceptibilidade da parte aérea. Além disso, atribuíram maior tolerância a seca aos genótipos com maior crescimento de plântulas. Paiva et al. (2018) também identificaram reduções no comprimento e matéria seca da parte aérea e raiz das plântulas de 10 genótipos de feijão-caupi

submetidos ao déficit hídrico (-0,4 MPa). A maior tolerância a seca também foi correlacionada por eles ao maior crescimento e desenvolvimento de plântulas observados para determinados genótipos.

Maior ênfase deve ser dada para o crescimento da raiz que mostra maior discriminação entre os genótipos. Ao analisar o CRA, maior desempenho é observado para os genótipos BAT477, G629 e G13D. Por outro lado, para MSRA, BAT477 foi o genótipo que apresentou maior acúmulo de matéria seca sob estresse em relação aos demais. Este fato demonstra a maior plasticidade radicular para tais materiais genéticos, característica fundamental para o sucesso em ambientes de estresse. Maior plasticidade radicular sob déficit hídrico também foi constatada para estes genótipos no capítulo 1 desta tese, sendo BAT477 o genótipo destaque nas avaliações de características radiculares. A superioridade de BAT477 já foi descrita em plantas adultas por Sponchiado et al. (1989). Os autores explicam esses resultados em função do mecanismo de prevenção a seca dado pelo maior comprimento de raiz e consequente extração de água em maior profundidade do solo. Isso foi observado no presente trabalho, sendo que houve crescimento desproporcional entre a parte aérea e a raiz, com maior crescimento radicular nas plantas de todos os genótipos avaliados (Figuras 8). É possível observar que esta característica já se mostra presente no genótipo desde fases iniciais do desenvolvimento.

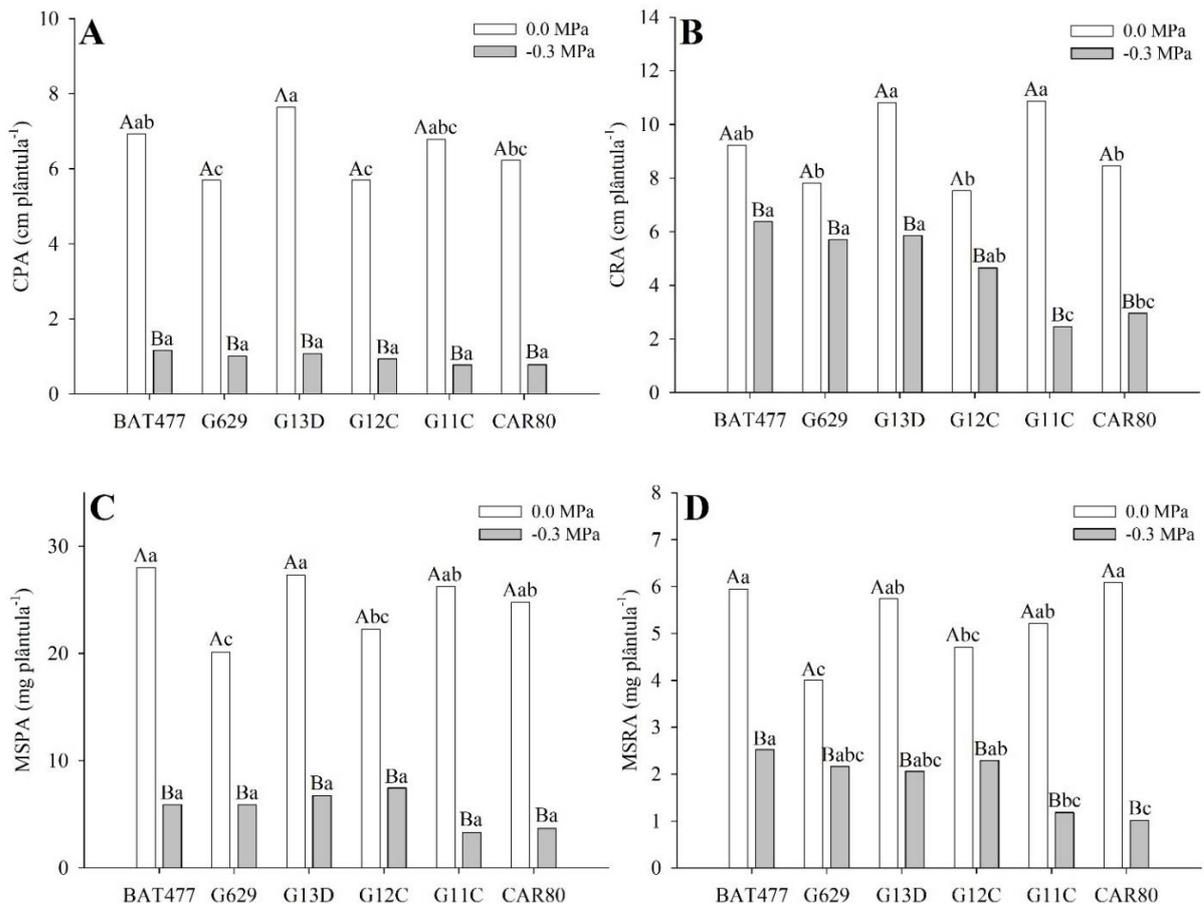


Figura 8. Crescimento de plântulas de genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos. CPA – Comprimento da parte aérea (A); CRA – Comprimento de raiz (B); MSPA – Matéria seca da parte aérea (C); MSRA – Matéria seca de raiz (D). Médias seguidas com a mesma letra maiúsculas entre os potenciais osmóticos e minúscula entre os genótipos não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação a atividade das enzimas antioxidantes, foi observado no controle, maior atividade da enzima SOD para as plântulas dos genótipos BAT477 e CAR80, sendo o menor valor para genótipo G13D (Figura 9A). Sob potencial osmótico de -0,3 MPa, as plântulas dos genótipos BAT477 e G629 apresentaram maior atividade da enzima e genótipo G11C a menor média. Ao comparar os potenciais osmóticos, nota-se diferença significativa para atividade da SOD para maioria dos genótipos, sendo observado redução na atividade da enzima nas plântulas sob déficit hídrico. Entretanto, apenas para o genótipo G13D não foi constatado diferença significativa para a atividade da SOD entre os tratamentos controle e déficit hídrico (0,0 MPa e -0,3 MPa).

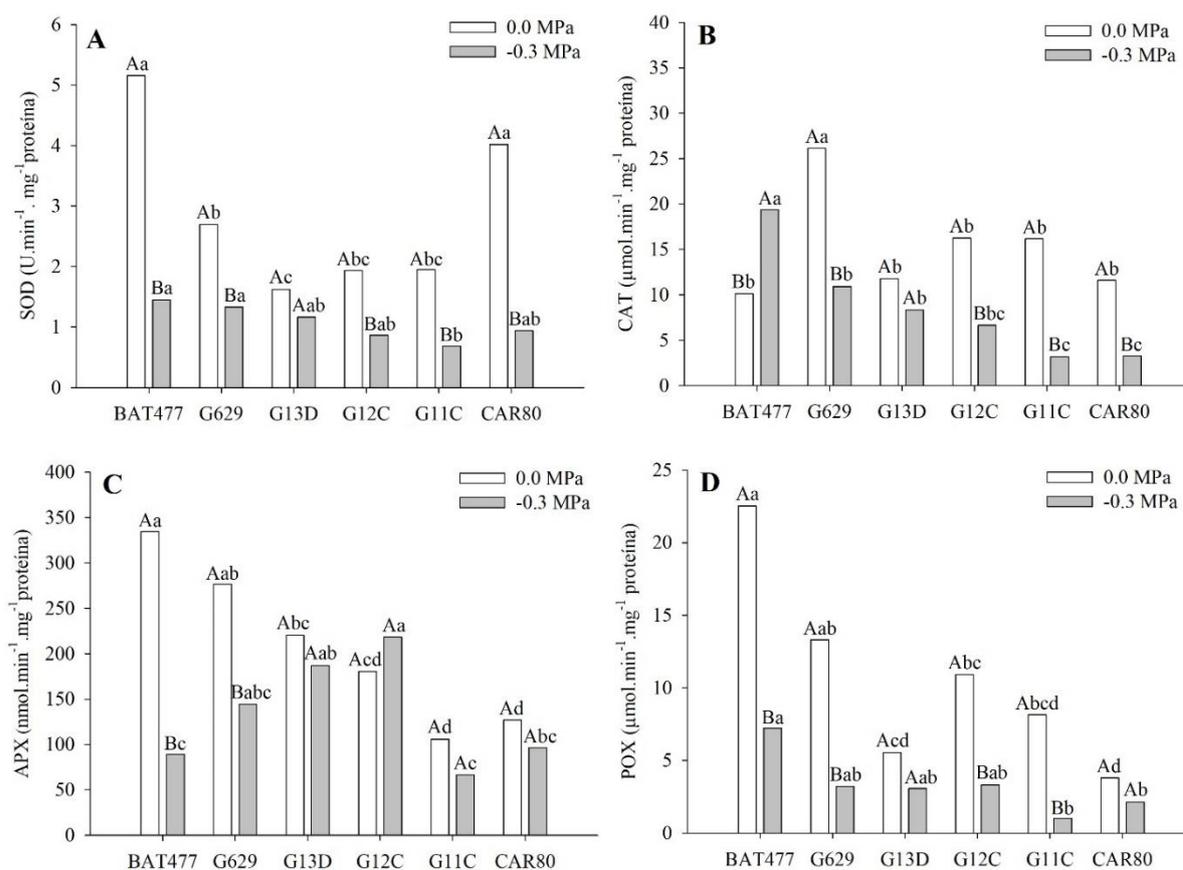


Figura 9. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), peroxidase do ascorbato (APX) (C) e peroxidase (POX) (D) em plântulas de genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos. Médias seguidas com a mesma letra, maiúsculas entre os potenciais osmóticos e minúscula entre os genótipos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A atuação da SOD como atenuadora do déficit hídrico é exemplificada por plantas transgênicas de amendoim (Negi et al., 2015) e seringueira (Leclercq et al., 2012). Nessas espécies, a superexpressão de algumas isoformas de SOD via transgenia proporcionou maior tolerância a seca. Conforme observado neste estudo, maior atividade da SOD foi observada em genótipos de feijão comum com maior nível de tolerância a seca em comparação com genótipos mais sensíveis. Esses resultados estão de acordo com Khan et al. (2019) que avaliaram genótipos de colza com níveis de tolerância ao déficit hídrico e observaram maior atividade da SOD nas plântulas do genótipo tolerante.

Ao observar a atividade da CAT no controle (Figura 9B), é possível notar dentre os genótipos, maior média para G629. Os demais apresentaram atividade enzimática inferior, porém não diferiram entre si. Sob déficit hídrico, BAT477 apresentou a maior atividade da

CAT, ao passo que as menores médias foram observadas para CAR80 e G11C. Ao se comparar os potenciais osmóticos em cada genótipo, com exceção de BAT477, todos os demais genótipos tiveram redução na atividade da enzima CAT. A referência tolerante ao déficit hídrico (BAT477) apresentou, sob estresse, atividade da CAT superior ao controle, fato que pode apontar esta enzima como um dos mecanismos chave na tolerância a seca presente neste genótipo. Recchia et al. (2013) em estudo comparativo entre BAT477 e CAR80 sob déficit hídrico também observaram aumentos expressivos da atividade da CAT em folhas de BAT477. O genótipo apresentou após 192 horas de exposição ao déficit hídrico, aumento na atividade da enzima de até cinco vezes maior que CAR80 nas mesmas condições. Ainda, destacam essa diferença como resposta importante para os diferentes níveis de tolerância

Em plântulas de genótipos de milho tolerantes ao déficit hídrico, Chugh et al. (2011) observaram maior atividade da CAT sob deficiência hídrica em comparação com genótipos mais sensíveis. Menor atividade da CAT em plântulas de milheto também foi observada para genótipo considerado sensível ao déficit hídrico em relação ao genótipo tolerante (Mundada et al., 2020). Maior atividade antioxidante em genótipos tolerantes a seca caracteriza maior capacidade de eliminar o excesso de EROs geradas sob condições de estresse, ao passo que genótipos mais sensíveis exibem menor capacidade de detoxificação celular (Khan et al., 2019). Estes achados estão de acordo com os observados para os genótipos de feijão comum avaliados neste estudo.

Em relação a APX (Figura 9C), no controle, as plântulas do genótipo BAT477 apresentaram a maior atividade enzimática. Já os genótipos com menor nível de tolerância G11C e CAR80 apresentaram as menores médias. Sob déficit hídrico, maior atividade da APX foi observada para o genótipo G12C, ao contrário de BAT477 e G11C que apresentaram os menores valores médios. A comparação da atividade da APX entre os potenciais osmóticos dentro de cada genótipo revelou diferença estatística apenas para as plântulas do genótipo BAT477 e G629, que apresentaram redução na atividade enzimática sob estresse.

No presente estudo, maior destaque para a atividade da APX deve ser dado às plântulas do genótipo G12C, que sob déficit hídrico tiveram aumento da atividade da APX acima da observado no controle. Esta pode ser uma das estratégias chave do referido genótipo para detoxificação do sistema celular das EROs e redução dos seus impactos sob os processos fisiológicos de germinação e crescimento de plântulas. Diferença na atividade da APX entre genótipos com níveis contrastantes de tolerância a seca também foi observado para plântulas de lentilha (Singh et al., 2017). Esses autores também observaram maior atividade enzimática

da APX sob déficit hídrico para genótipo tolerante a seca em comparação com genótipo sensível.

Houve diferença estatística entre os genótipos, no controle, para a atividade da POX (Figura 9D), que mostrou maior atividade nas plântulas do genótipo BAT477. Sob déficit hídrico, maior atividade dessa enzima também foi identificada para BAT477 e as plântulas dos genótipos com menor nível de tolerância ao déficit hídrico, CAR80 e G11C, apresentaram as menores atividades da enzima.

Em relação aos potenciais osmóticos, foi observada diferença estatística para as plântulas dos genótipos BAT477, G629, G12C e G11C, que tiveram a atividade da POX reduzida sob deficiência hídrica. Para as plântulas dos genótipos G13D e CAR80, não foi observada diferença estatística na atividade da POX analisando os potenciais osmóticos.

As maiores atividades da POX foram observadas, sob déficit hídrico, para genótipos com maior nível de tolerância a seca em relação aos mais sensíveis (Figura 9D). Atividade diferencial da enzima POX também foi observada em duas espécies de feijão, *P. acutifolius* e *P. vulgaris*, sendo consideradas, respectivamente tolerante e sensível a seca (Türkan et al., 2005). Esses autores observaram maior atividade da POX em folhas de *P. acutifolius* em comparação com *P. vulgaris* sob deficiência hídrica, e correlacionaram essa maior atividade com a maior capacidade de metabolizar o H₂O₂ gerado em situações de estresse.

De maneira geral, as plântulas dos genótipos submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução da atividade das enzimas antioxidantes (Figura 9). Porém, os genótipos BAT477 e G12C mostraram resposta diferencial, com aumentos dos níveis de atividade enzimática da de CAT para BAT477 e da APX para G12C. Liu et al. (2019) observaram redução na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, APX e POX em plântulas de arroz sob déficit hídrico. Além disso, esses autores observaram aumento no conteúdo de EROs (H₂O₂ e O₂^{•-}) e atribuíram a reduzida atividade de enzimas antioxidantes como fator prejudicial à manutenção do estado redox nas células. Em condições ambientais favoráveis, a produção e eliminação de EROs são mantidas em equilíbrio pelos mecanismos de defesa antioxidantes (Gill e Tuteja, 2010). Sob déficit hídrico, esse equilíbrio possivelmente foi alterado e o acúmulo de EROs transcendeu a sua eliminação, o que gerou um distúrbio no sistema antioxidante e contribuiu para redução na atividade das enzimas. Com relação a atividade da APX, a maioria dos genótipos não mostrou diferença entre os potenciais osmóticos avaliados. Entretanto, G11C e CAR80 exibiram as menores atividades da APX, tanto no controle quanto sob déficit hídrico. Esses achados indicam um sistema antioxidante com menor capacidade de manutenção do equilíbrio redox da célula em condição de estresse, o que está de acordo com a maior redução na germinação e no

crescimento de plântulas observado sob deficiência hídrica para esses genótipos, comparados aos demais (Figuras 7 e 8).

Em síntese, os genótipos com menor nível de tolerância a seca (G11C e CAR80) apresentaram menor atividade enzimática sob déficit hídrico em comparação com genótipos descritos com maior nível de tolerância ao estresse (BAT477, G13D, G629 e G12C). Esses resultados estão de acordo com as afirmações de Gill e Tuteja (2010) sobre a tolerância ao estresse em plantas ser melhorada por aumentos nos níveis de enzimas antioxidantes.

Para todos os genótipos avaliados, a deficiência hídrica aumentou o conteúdo de prolina em comparação com o controle (Figura 10).

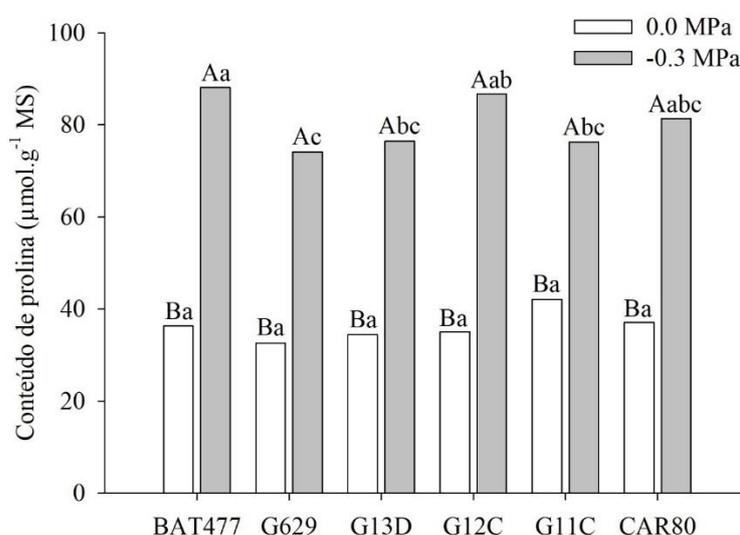


Figura 10. Conteúdo de prolina em plântulas de genótipos de feijão comum sob dois potenciais osmóticos. Médias seguidas com a mesma letra maiúsculas entre os potenciais osmóticos e minúscula entre os genótipos não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao se comparar os genótipos no controle, não houve diferença significativa para o conteúdo de prolina. Porém, sob deficiência hídrica, as plântulas dos genótipos BAT477 e G12C exibiram maior conteúdo de prolina. Por outro lado, o menor conteúdo foi observado nas plântulas do genótipo G629 (Figura 10).

O acúmulo de prolina é frequentemente associado a tolerância a seca em diversas espécies, de tal forma que seu conteúdo é maior em plantas tolerantes em comparação com as mais sensíveis (Anjum et al., 2011). No presente estudo, o porcentual de aumento no conteúdo de prolina sob déficit hídrico em relação ao controle foi de 143% (BAT477), 127% (G629), 122% (G13D), 147% (G12C), 81% (G11C) e 119% (CAR80). Apesar de pouca variação entre os genótipos sob déficit hídrico (Figura 10), maior porcentual de aumento foi observado para as plântulas dos genótipos com maior nível de tolerância a seca. O menor porcentual de aumento

foi observado para G11C que também foi o genótipo com pior desempenho germinativo sob estresse. Biju et al. (2017) relataram que o maior acúmulo de prolina sob déficit hídrico durante a germinação foi associado a tolerância a seca na cultura da lentilha. Esses autores constataram maior acúmulo de prolina em genótipos tolerantes a seca. Resultados semelhantes também foram observados em plântulas de feijão-caupi, no qual genótipos tolerantes a seca apresentaram, sob déficit hídrico, maior conteúdo de prolina na raiz em relação ao mais sensíveis (Carvalho et al., 2019).

A prolina é um aminoácido com função osmoprotetora e antioxidante que se acumula nas células em resposta a estresses abióticos, como o déficit hídrico (Rohman et al., 2020). Ao ser acumulada em condições de deficiência hídrica, a prolina desempenha a função de ajustamento osmótico ao reduzir o potencial osmótico celular e aumentar a retenção de água pela planta (Fang e Xiong, 2015b). Desta forma a prolina contribui para a tolerância a deficiência hídrica nas plantas pois elas podem alterar de forma ativa o conteúdo de substâncias osmóticas e regular o potencial osmótico em vacúolos, o que contribui para maior crescimento da planta (Wang et al., 2019; Jain et al., 2019).

O conteúdo de prolina livre pode apresentar níveis elevados em plantas submetidas a estresse por seca, além disso, este acúmulo, já observado em muitas espécies, fez surgir a hipótese de que maiores conteúdos de prolina podem promover tolerância à seca (Bhaskara et al., 2015). Segundo Li et al. (2014), a prolina é uma das principais substâncias osmóticas reguladoras na cultura do feijão comum. Este fato foi observado por Yamamoto et al. (2014) em plântulas de feijão comum, cultivar Jalo Precoce, que identificaram aumentos no conteúdo de prolina em função da redução do potencial osmótico. Os resultados observados nesta pesquisa estão de acordo com o papel protetor da prolina, visto que para todos os genótipos estudados, maiores conteúdos foram observados sob deficiência hídrica em comparação com o controle.

A análise multivariada de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando-se os dados obtidos pelo ITE, calculado para cada variável em estudo. Assim, maiores valores do índice refletem menores reduções nas características avaliadas em condição de déficit hídrico, comparado com o controle. A PCA (Figura 11) se mostrou adequada para avaliar a relação entre as variáveis estudadas, uma vez que a soma dos dois primeiros componentes principais ($PC1 = 52,5\%$ e $PC2 = 22,8\%$) explicou $75,3\%$ da variação total dos dados (Varmuza e Filzmoser, 2009).

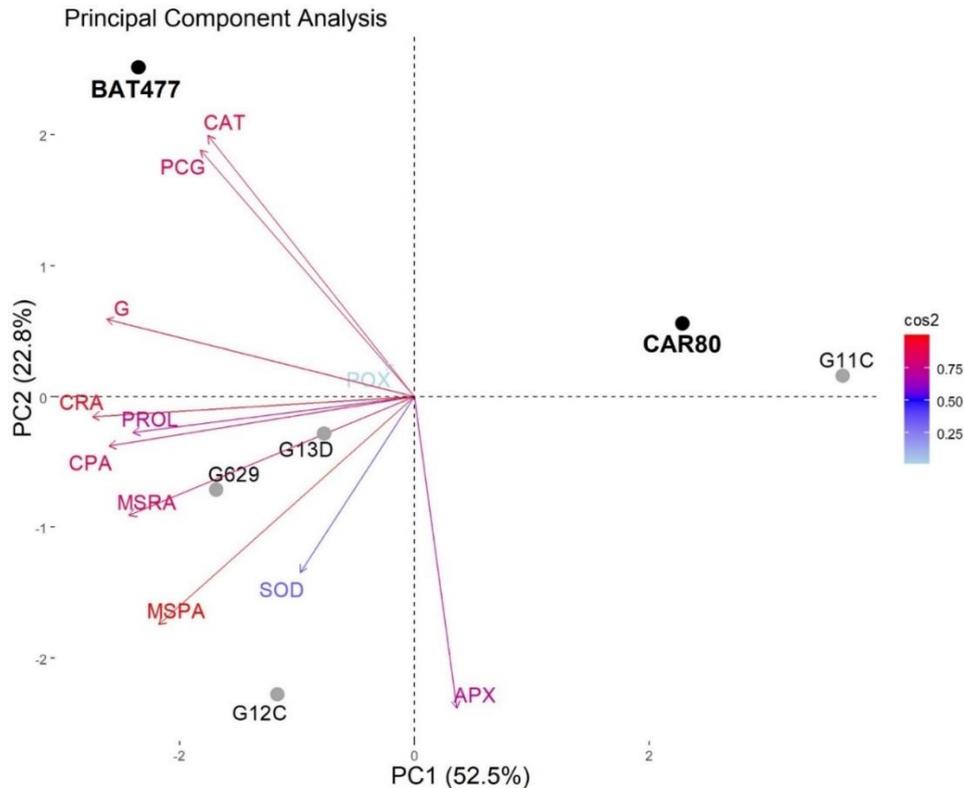


Figura 11. *Biplot* obtido da análise de componentes principais (PCA) baseada nos dados dos genótipos de feijão comum padronizados pelo ITR (estresse vs controle). Componente principal 1 (PC1); Componente principal 2 (PC2); Germinação (G); Primeira contagem do teste de germinação (PCG); Comprimento de parte aérea (CPA); Comprimento de raiz (CRA); Matéria seca de parte aérea (MSPA); Matéria seca da raiz (MSRA); Superóxido dismutase (SOD); Catalase (CAT); Peroxidase do ascorbato (APX); Peroxidase (POX) e Prolina (PROL).

Foi observado no *biplot* posicionamento diferencial entre os genótipos com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico (Figura 11). Assim, observa-se que os genótipos anteriormente classificados com maiores níveis de tolerância ao déficit hídrico (BAT477, G629, G13D e G12C) se posicionaram na mesma direção dos vetores das variáveis avaliadas, apresentando maiores valores de ITE para cada uma delas. Por outro lado, os genótipos com menores níveis de tolerância ao estresse (CAR80 e G11C) se posicionaram do lado oposto e distantes dos vetores das variáveis avaliadas, mostrando menores valores de ITE para essas variáveis.

Ao observar de forma isolada o posicionamento de cada genótipo, pode-se observar que o genótipo BAT477 se posicionou em PC1-/PC2+, próximo aos vetores das variáveis de PCG e CAT, apresentando assim os maiores valores de ITE, ou seja, menores reduções para essas variáveis. Esses dados reforçam a participação da enzima CAT como importante mecanismo de tolerância ao déficit hídrico para esse genótipo.

Os genótipos G629 e G13D se posicionaram em PC1-/PC2-, próximos aos vetores das variáveis morfológicas (CPA, CRA, MSPA e MSRA) e do conteúdo de prolina (PROL). Esses genótipos não apresentaram no tratamento de déficit hídrico altos valores de prolina, porém, comparado com o controle, foi observado aumentos significativos no conteúdo desse aminoácido sob o estresse. Assim, o acúmulo de prolina é uma estratégia utilizada por esses genótipos para a maior tolerância ao déficit hídrico.

Por fim, em relação ao genótipo G12C, sua posição em PC1-/PC2-, revela maiores valores de ITE para a atividade das enzimas SOD e APX, devido a sua maior proximidade com os vetores destas variáveis. Dessa forma, as maiores atividades dessas enzimas sob condição de déficit hídrico se destacam como mecanismo de aumento da tolerância ao déficit hídrico.

Em síntese, BAT477, G629, G13D e G12C apresentaram o aumento da atividade de enzimas antioxidantes e acúmulo de prolina como mecanismos de tolerância ao déficit hídrico. Por outro lado, a maior sensibilidade dos genótipos CAR80 e G11C se mostrou principalmente em razão de menores atividades de enzimas relacionadas a defesa contra o estresse oxidativo gerado pelas EROs. Estes resultados explicam as diferenças encontradas para a germinação e crescimento de plântulas destes genótipos sob deficiência hídrica (Figuras 7 e 8). Além disso, destaca-se BAT477, G629, G13D e G12C como genótipos de maior potencial para cultivos sob deficiência hídrica no solo.

4 CONCLUSÕES

Maior atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo e maior acúmulo de prolina são estratégias utilizadas por genótipos mais tolerantes a seca em fases iniciais do desenvolvimento das plantas.

Os genótipos BAT477 e G12C além de maior conteúdo de prolina, apresentam distintas estratégias de tolerância ao déficit hídrico. Enquanto BAT477 aumenta a atividade da enzima CAT, G12C mostra maiores aumentos para APX.

As maiores reduções na germinação, crescimento de plântulas e atividade enzimática, além de menor acúmulo de prolina sob déficit hídrico, foram observadas para os genótipos mais sensíveis ao déficit hídrico, CAR80 e G11C.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, v.109, p.1247-1257, 1995.
- ANJUM, S.A.; XIE, X.Y.; WANG, L.C.; SALEEM, M.F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African journal of agricultural research**, v.6, n.9, p.2026-2032, 2011.
- ASHRAF, M.F.M.R.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and experimental botany**, v.59, n.2, p.206-216, 2007.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.
- BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.; NONOGAKI, H. (2013) *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3rd ed. New York, Springer. 392p.
- BHASKARA, G.B.; YANG, T.H.; VERSLUES, P.E. Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.484, 2015.
- BIAŁECKA, B.; KĘPCZYŃSKI, J. Germination, α - and β -amylase and total dehydrogenase activities of *Amaranthus caudatus* seeds under water stress in the presence of ethephon or gibberellin A3. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v.52, n.1, p.7-12, 2010.
- BIJU, S.; FUENTES, S.; GUPTA, D. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system. **Plant physiology and biochemistry**, v.119, p.250-264, 2017.
- BLUM, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. **Plant, Cell & Environment**, v.40, n.1, p.4-10, 2017.
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S.A Cultura. In: CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão do plantio à colheita: a cultura**. Viçosa: Editora UFV, p. 9-14, 2015.
- BOUSLAMA, M.; SCHAPAUGH JR, W. T. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance 1. **Crop science**, v.24, n.5, p.933-937, 1984.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v.72, n.1-2, p.248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- CARILLO, P.; GIBON, Y. Protocol: extraction and determination of proline. **Prometheus Wiki**, 2011.

CARVALHO, M.; MATOS, M.; CASTRO, I.; MONTEIRO, E.; ROSA, E.; LINO-NETO, T.; CARNIDE, V. Screening of worldwide cowpea collection to drought tolerant at a germination stage. **Scientia horticultrae**, v.247, p.107-115, 2019.

CASTIANO, B.U.L.; KIMURTO, P.K.; OJWANG, P.P.O. Stability of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for root system architecture and seed yield in multi-environments. **Field Crops Research**, v.293, p.108863, 2023.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods Enzymology**, v.2, p.764-775, 1955.

CHUGH, V.; KAUR, N.; GUPTA, A.K. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v.48, p.47-53, 2011.

COELHO, D.L.M.; AGOSTINI, E.A.T.D.; GUABERTO, L.M.; MACHADO NETO, N.B.; CUSTÓDIO, C.C. Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, p.491-499, 2010.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and molecular life sciences**, v.72, n. 4, p.673-689, 2015b.

FINCH-SAVAGE, W.E.; BASSEL, G.W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of experimental botany**, v.67, n.3, p.567-591, 2016.

GIANNOPOLITIS C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v.48, n.12, p.909-930, 2010.

GONÇALVES, J.G.R.; CHIORATO, A.F.; SILVA, D.A.D.; ESTEVES, J.A.D.F.; BOSETTI, F.; CARBONELL, S.A.M. Análise da capacidade combinatória em feijoeiro comum submetido ao déficit hídrico. **Bragantia**, v.74, n.2, p.149-155, 2015.

HASANUZZAMAN, M., AL MAHMUD, J., ANEE, T. I., NAHAR, K., & ISLAM, M. T. Drought stress tolerance in wheat: omics approaches in understanding and enhancing antioxidant defense. **Abiotic stress-mediated sensing and signaling in plants: an omics perspective**, p. 267-307, 2018.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M.H.M.; ZULFIQAR, F.; RAZA, A.; MOHSIN, S.M.; MAHMUD, J.A.; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v.9, n.8, p.681, 2020.

HAVIR E.A.; MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.

JAIN, M.; KATARIA, S.; HIRVE, M.; PRAJAPATI, R. Water Deficit Stress Effects and Responses in Maize. In: **Plant Abiotic Stress Tolerance**. Springer, Cham, 2019. p.129-151.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. **R package version**, v.1, n.3, 2016.

KHAN, M.N.; ZHANG, J.; LUO, T.; LIU, J.; NI, F.; RIZWAN, M.; FAHAD, S.; HU, L. Morpho-physiological and biochemical responses of tolerant and sensitive rapeseed cultivars to drought stress during early seedling growth stage. **Acta physiologiae plantarum**, v.41, n.2, p.25, 2019.

KOSKOSIDIS, A.; EBRAHIM, K.H.A.H.; MAVROMATIS, A.; PAVLI, O.; VLACHOSTERGIOS, D.N. Effect of PEG-induced drought stress on germination of ten chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.48, n.1, p.294-304, 2020.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES, F.G.; JR.; NAKAGAWA, J. (2020). Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In F. C. Krzyzanowski., R. D. Vieira., J. Marcos Fo. & J. B. França-Neto (Eds.), *Vigor de sementes: conceitos e testes* (pp. 79-140). Londrina, PR: ABRATES.

LANNA, A.C.; SILVA, R.A.; FERRARESI, T.M.; MENDONÇA, J.A.; COELHO, G.R.C.; MOREIRA, A.S.; VALDISSER P.A.M.R.; BRONDANI C.; VIANELLO, R.P. Physiological characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under abiotic stresses for breeding purposes. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, n.31, p.31149-31164, 2018.

LECLERCQ, J.; MARTIN, F.; SANIER, C.; CLEMENT VIDAL, A.; FABRE, D.; OLIVER, G.; LARDET, L.; AYAR, A.; PEYRAMARD, M.; MONTORO, P. Over-expression of a cytosolic isoform of the HbCuZnSOD gene in *Hevea brasiliensis* changes its response to a water deficit. **Plant molecular biology**, v.80, n.3, p.255-272, 2012.

LI, L.; WANG, L.F.; WU, J.; JING, R.L.; WANG, S.M. Physiological characteristics of drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Agronomica Sinica**, v.40, n.4, p.702-710, 2014.

LIU, J.; HASANUZZAMAN, M.; WEN, H.; ZHANG, J.; PENG, T.; SUN, H.; ZHAO, Q. High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice. **Protoplasma**, v.256, n.5, p.1217-1227, 2019.

MAHMOOD, T.; KHALID, S.; ABDULLAH, M.; AHMED, Z.; SHAH, M.K.N.; GHAFOR, A.; DU, X. Insights into drought stress signaling in plants and the molecular genetic basis of cotton drought tolerance. **Cells**, v.9, n.1, p.105, 2020.

MOHAMMADKHANI, N.; HEIDARI, R. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. **World Applied Sciences Journal**, v.3, n.3, p.448-453, 2008.

MUNDADA, P.S.; NIKAM, T.D.; KUMAR, S.A.; UMDALE, S.D.; AHIRE, M.L. Morpho-physiological and biochemical responses of finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) genotypes to PEG-induced osmotic stress. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.23, p.101488, 2020.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

NARAYANA, P.K.; VON WETTBERG, E.J. GWAS and genomic approaches in legumes, an expanding toolkit for examining responses to abiotic stresses. In: **The Plant Family Fabaceae**. Springer, Singapore, 2020. p. 161-180.

NEGI, N.P.; SHRIVASTAVA, D.C.; SHARMA, V.; SARIN, N.B. Overexpression of CuZnSOD from *Arachis hypogaea* alleviates salinity and drought stress in tobacco. **Plant Cell Reports**, v.34, n.7, p.1109-1126, 2015.

OLIVEIRA, M.G.C.; OLIVEIRA, L.F.C.; WENDLAND, A.; GUIMARÃES, C.M.; QUINTELA, E.D.; BARBOSA, F.R.; SILVEIRA, P.M. *Conhecendo a Fenologia do Feijoeiro e Seus Aspectos Fitotécnicos*, 1st ed.; EMBRAPA: Brasília, Brazil, 2018.

OZTURK, M.; TURKYILMAZ UNAL, B.; GARCÍA-CAPARRÓS, P.; KHURSHEED, A.; GUL, A.; HASANUZZAMAN, M. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v.172, n.2, p.1321-1335, 2021.

PAIVA, E.P.D.; SÁ, F.V.D.S.; TORRES, S.B.; BRITO, M.E.; MOREIRA, R.C.; SILVA, L.D.A. Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.22, p.407-411, 2018.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.137-143, 1999.

PIRES, R.M.O.; ÁVILA, M.A.B.; LEITE, D.G.; SANTOS, H.O.; SOUZA, G.A.; VON PINHO, E.V.R. Physiological and enzymatic alterations in sesame seeds submitted to different osmotic potentials. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.3, 2017.

POLANIA, J.; RAO, I. M.; CAJIAO, C.; RIVERA, M.; RAATZ, B.; BEEBE, S. Physiological traits associated with drought resistance in Andean and Mesoamerican genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v.210, p.17-29, 2016.

R CORE TEAM. R Development Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2022.

RECCHIA, G.H.; CALDAS, D.G.G.; BERALDO, A.L.A.; DA SILVA, M.J.; TSAI, S.M. Transcriptional analysis of drought-induced genes in the roots of a tolerant genotype of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n.4, p.7155-7179, 2013.

- ROHMAN, M.M.; MOLLA, M.R.; AKHI, A.H.; ALAM, S.S.; HANNAN, A.; HASANUZZAMAN, M. Use of Osmolytes for Improving Abiotic Stress Tolerance in Fabaceae Plants. In: **The Plant Family Fabaceae**. Springer, Singapore, 2020. p. 181-222.
- SARKER, U.; OBA, S. Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v.186, n.4, p.999-1016, 2018.
- SINGH, A.; KUMAR, A.; YADAV, S.; SINGH, I.K. Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. **Plant Gene**, v.18, p.100173, 2019.
- SINGH, D.; SINGH, C.K.; TAUNK, J.; TOMAR, R.S.S.; CHATURVEDI, A.K.; GAIKWAD, K.; PAL, M. Transcriptome analysis of lentil (*Lens culinaris* Medikus) in response to seedling drought stress. **BMC genomics**, v.18, n.1, p.1-20, 2017.
- SINGH, M.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V.P.; PRASAD, S.M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v.14, n.3, p.407-426, 2015.
- SPONCHIADO, B.N.; WHITE, J.W.; CASTILLO, J.A.; JONES, P.G. Root growth of four common bean cultivars in relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. **Experimental Agriculture**, v.25, n.2, p.249-257, 1989.
- SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in plant science**, v.15, n.2, p.89-97, 2010.
- TÜRKAN, I.; BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; KOCA, H. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. **Plant Science**, v.168, n.1, p.223-231, 2005.
- ULLAH, A.; MANGHWAR, H.; SHABAN, M.; KHAN, A.H.; AKBAR, A.; ALI, U.; ALI, E.; FAHAD, S. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, n.33, p.33103-33118, 2018.
- VARMUZA, K.; FILZMOSE, P. **Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics**. CRC press, 2009.
- VILLELA, F.A.; DONI-FILHO, L.; SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.
- WANG, Q.; LIN, F.; WEI, S.H.; MENG, X.X.; YIN, Z.G.; GUO, Y.F.; YANG, G.D. Effects of drought stress on endogenous hormones and osmotic regulatory substances of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at seedling stage. **Applied ecology and environmental research**, v.17, n.2, p.4447-4457, 2019.
- WIJEWARDANA, C.; ALSAJRI, F.A.; REDDY, K.R. Soybean seed germination response to in vitro osmotic stress. **Seed Technol**, v.39, p.143-154, 2018.

WU, L.; CHANG, Y.; WANG, L.; WANG, S.; WU, J. Genome-wide association analysis of drought resistance based on seed germination vigor and germination rate at the bud stage in common bean. **Agronomy Journal**, v.113, n.4, p. 2980-2990, 2021.

YAMAMOTO, C.J.T.; LEITE, R.G.F.; MINAMIGUCHI, J.Y.; BRAGA, I.; NETO, N.B.M.; CUSTÓDIO, C.C. Water-deficit tolerance induction during germination of Jalo Precoce bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar. **Acta physiologiae plantarum**, v.36, n.11, p.2897-2904, 2014.

ZANDALINAS, S.I.; FRITSCHI, F.B.; MITTLER, R. Global warming, climate change, and environmental pollution: recipe for a multifactorial stress combination disaster. **Trends in Plant Science**, v.26, n.6, p.588-599, 2021.