

TALITHA SOARES PEREIRA

**ASPECTOS HIDRÁULICOS DA TOLERÂNCIA À SECA EM CULTIVARES DE
FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins

Coorientadora: Amanda Ávila Cardoso

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P436a
2019
Pereira, Talitha Soares, 1990-
Aspectos hidráulicos da tolerância à seca em cultivares de
feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) / Talitha Soares Pereira. –
Viçosa, MG, 2019.
42 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 35-39.

1. Secas. 2. Déficit hídrico. 3. Plantas herbácea.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal.

II. Título.

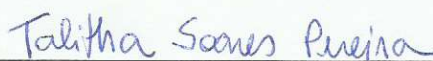
CDD 22. ed. 630.215773

TALITHA SOARES PEREIRA

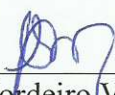
**ASPECTOS HIDRÁULICOS DA TOLERÂNCIA À SECA EM CULTIVARES DE
FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de julho de 2019.



Talitha Soares Pereira
(Autora)



Samuel Cordeiro Vitor Martins
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para alcançar meus objetivos.

Ao meu pai Tadeu Alves Pereira e minha mãe Almerinda Soares dos Santos, pelo incentivo e apoio incondicional, e à minha irmã Thaís pelo companheirismo.

À Universidade Federal de Viçosa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela infraestrutura e suporte.

Ao meu orientador Prof. Dr Samuel Cordeiro Vitor Martins, pela orientação, dedicação e paciência. Obrigada por me ensinar tanto.

Aos membros da banca, pela prontidão e disponibilidade para colaborar como meu projeto.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr Allan Klynger da Silva Lobato, pelo incentivo inicial à pesquisa.

A todos os professores que foram responsáveis pelo meu crescimento intelectual.

Ao Laboratório de Hidráulica em Plantas, em especial à Nágila Silva, Cleiton de Paula, Leonardo Araújo, Luciana Soares, Moab Andrade e Ramon Badaró que me ajudaram diretamente na execução desse projeto.

À republica Casa Nova: Dandara, Rosangela, Maisa, Flávia, Silvino e Fábio, obrigada por terem me acolhido e tornado essa casa meu lar.

Aos Forasteiros: Hellen, Nicolas, Gleyso, Nágila, Fábio e Rayza, por me acompanharem desde o primeiro dia de aula.

Aos colegas de laboratório que estão presentes no meu dia a dia.

E a todos, que direta ou indiretamente, colaboraram para a concretização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

PEREIRA, Talitha Soares, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Aspectos hidráulicos da tolerância à seca em cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*)**. Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Coorientadora: Amanda Ávila Cardoso.

Há um crescente interesse no desenvolvimento de cultivares mais tolerantes à seca e na busca de marcadores que possam auxiliar na seleção de genótipos promissores. Para tal, características hidráulicas como a vulnerabilidade à cavitação tem se mostrado importantes em espécies lenhosas, mas estudos com espécies herbáceas ainda são escassos. De modo a preencher essa lacuna, utilizou-se plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), uma leguminosa que apresenta grande variabilidade genética em resposta ao déficit hídrico, e, portanto, uma ferramenta interessante para compreender o papel da vulnerabilidade a cavitação na tolerância à seca. Plantas das cultivares Pingo de Ouro 1-2 (PO; tolerante) e Santo Inácio (SI; sensível) foram cultivadas a partir de sementes em vasos de 4 L durante 30 dias, sendo então submetidas a dois regimes hídricos: irrigadas (CT) e déficit hídrico seguido por reidratação (DH). Foram realizadas as caracterizações morfológica, anatômica e fotossintética, determinação da arquitetura hidráulica, vulnerabilidade à cavitação e capacidade de recuperação após déficit hídrico. Dentre as características anatômicas foliares avaliadas, poucas diferenças foram encontradas entre regimes hídricos e entre cultivares. A arquitetura hidráulica da nervura central foi conservada, mas uma maior plasticidade foi encontrada nos pecíolos. As cultivares não diferiram quanto à vulnerabilidade hidráulica, apresentando em média P_{50} e P_{88} igual a -1,64 e -1,69 MPa, respectivamente. Foi encontrado que ambas cultivares operam sob estreita margem de segurança hidráulica quando irrigadas; entretanto, os potenciais hídricos sob déficit hídrico não foram suficientes para causar falha hidráulica, mesmo sob 15 dias de déficit hídrico. Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila foram reduzidos significativamente em ambas as cultivares sob déficit hídrico, mas houve total recuperação dois dias após a reidratação. Os caules apresentaram melhor *status* hídrico, quando comparados com as folhas, porém, ambos órgãos tiveram severas reduções na massa seca, indicando consumo e/ou remobilização de reservas. Interessantemente, o menor conteúdo de massa seca nesses órgãos não foi acompanhado por reduções no conteúdo de água, resultando em grande aumento na suculência dos tecidos. Futuros experimentos são necessários para compreender se a vulnerabilidade hidráulica de caules e raízes pode ter papel na tolerância à seca e averiguar quais alterações na composição bioquímica governam as mudanças na massa seca de folhas e

caule sob déficit hídrico e como estas reduções afetam o desenvolvimento da planta após a reidratação.

Palavras-chave: Vulnerabilidade hidráulica. Déficit hídrico. Herbácea.

ABSTRACT

PEREIRA, Talitha Soares, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Hydraulic aspects of the drought tolerance in cowpea cultivars (*Vigna unguiculata*)**. Adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Co-adviser: Amanda Ávila Cardoso.

There is a growing interest in the development of more drought-tolerant cultivars and in the search for markers that may help in the selection of promising genotypes. Hydraulic characteristics such as vulnerability to cavitation have been shown to be important in woody species, but studies with herbaceous species are still scarce. In order to fill this gap, we used cowpea plants (*Vigna unguiculata*), a legume that presents great genetic variability in response to water deficit, and, therefore, it is an interesting tool to understand the role of vulnerability to cavitation in drought tolerance. Plants of the cultivars Pingo de Ouro 1-2 (PO; tolerant) and Santo Inácio (SI; sensitive) were cultivated in 4 L pots for 30 days, and were submitted to two water regimes: irrigated (CT) and water deficit followed by rehydration (WD). Morphological, anatomical and photosynthetic characterizations, determination of the hydraulic architecture, vulnerability to cavitation and the capacity of recovery after water deficit were performed. Among the leaf anatomical characteristics evaluated, few differences were found between water regimes and cultivars. The hydraulic architecture of the major vein was conserved, but a greater plasticity was found in the petioles. The cultivars did not differ in their hydraulic vulnerability, with P50 and P88 equal to -1.64 and -1.69 MPa, respectively. We found that both cultivars operate under narrow hydraulic safety margins when irrigated; however, water potentials under drought were not sufficient to cause hydraulic failure, even under 15 days of water deficit. The gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters were significantly reduced in both cultivars under drought, but there was complete recovery two days after rehydration. The stems presented a better water status when compared to the leaves, however, both organs had severe reductions in dry mass, indicating consumption and/or remobilization of reserves. Interestingly, the lower dry mass content in these organs was not accompanied by reductions in water content, leading to a large increase in the tissue succulence. Future experiments are needed to understand whether hydraulic vulnerability of stems and roots may play a role in drought tolerance and to determine which changes in the biochemical composition are responsible for the changes in the dry mass of leaves and stem under water deficit and how these reductions affect the plant development after rehydration.

Keywords: Hydraulic vulnerability. Water deficit. Herbaceous.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	OBJETIVOS	11
2.1.	Objetivo geral	11
2.2.	Objetivos específicos	11
3.	MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1.	Material vegetal e aplicação dos tratamentos	11
3.2.	Curvas de vulnerabilidade hidráulica	12
3.3.	Trocas gasosas e fluorescência da clorofila	13
3.4.	Relações hídricas e conteúdo de água da folha e do caule	14
3.5.	Características anatômicas	14
3.6.	Análises estatísticas	15
4.	RESULTADOS	16
4.1.	Anatomia foliar	16
4.2.	Vulnerabilidade hidráulica	20
4.3.	Experimentos I e II	23
5.	DISCUSSÃO	28
6.	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35
	APÊNDICE A – Dados suplementares	40

1. INTRODUÇÃO

Dentre os diversos fatores bióticos e abióticos capazes de reduzir a produtividade das plantas, a disponibilidade de água no solo é um dos fatores mais limitantes para a produção vegetal. As plantas são constantemente ameaçadas pelo risco de déficit hídrico devido às incertezas do clima, e os cenários futuros de mudanças climáticas (mudanças nos regimes de chuvas e umidade do solo, secas mais severas e generalizadas em muitas áreas e aumento da temperatura) tornam ainda mais alarmantes as previsões de produtividade dos cultivos agrícolas no futuro (IPCC, 2014; TRUEBA *et al.*, 2017).

Diante desses cenários, a busca por cultivares mais tolerantes à seca tem sido o objetivo de diversos programas de melhoramento, sejam eles baseados no melhoramento convencional ou biotecnológico (ARAUS *et al.*, 2008; FANG e XIONG, 2015). Nas últimas décadas, inúmeros estudos caracterizaram as respostas em nível morfofisiológico e mais recentemente em nível molecular, que são desencadeadas quando as plantas são submetidas ao déficit hídrico (CHAVES *et al.*, 2003; SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007; TODAKA *et al.*, 2015). Todo esse conhecimento permitiu a adoção de diferentes estratégias para o melhoramento da tolerância à seca, mas, em última instância, a maioria delas são centralizadas em duas vertentes: a maximização da absorção de água e a minimização da sua perda pelas plantas (YU *et al.*, 2013).

Dentro de um contexto agrícola, e considerando que os principais cultivos agrícolas são culturas anuais, a maximização da absorção de água, permitindo que as culturas possam aliviar possíveis déficits hídricos ao redor de períodos críticos do desenvolvimento (próximo à antese, por exemplo), tem recebido grande foco nos últimos anos (BLUM, 2009; SINCLAIR, 2012; VADEZ *et al.*, 2014). O controle da transpiração se dá por um balanço entre demanda e fornecimento, em que o primeiro envolve características da parte aérea e o segundo, características do sistema radicular, ambos modulados por componentes hidráulicos e/ou metabólicos (BRODRIBB e JORDAN, 2011; LACHENBRUCH e MCCULLOH, 2014). Apesar de maiores taxas transpiratórias serem benéficas, quando acompanhadas de ganhos fotossintéticos, as plantas não podem aumentar a transpiração (e tensão no xilema) de forma descontrolada, caso contrário, a tensão alcançaria níveis que levariam à quebra da coluna de água nos condutos (cavitação) tornando esses condutos não-funcionais (MANZONI *et al.*, 2014; MARTÍNEZ-VILALTA *et al.*, 2014). Dessa maneira, o primeiro nível de controle para a prevenção da cavitação é justamente o fechamento estomático, reduzindo as taxas transpiratórias.

Estudos realizados em plantas lenhosas têm confirmado que estas plantas adotam uma estratégia de minimização da ocorrência de cavitação, de modo que tal processo não ocorre tão rotineiramente como previamente se pensava (DELZON e COCHARD, 2014; CHOAT *et al.*, 2015). Por outro lado, poucos estudos tiveram foco em espécies herbáceas (MATZNER *et al.*, 2014), parcialmente por se acreditar que, devido ao seu tamanho reduzido, a ocorrência da pressão radicular seria capaz de recuperar vasos embolizados ao longo da noite, em condições onde a umidade do solo seja favorável (STILLER *et al.*, 2013). Não obstante, o maior diâmetro dos vasos e reduzido comprimento torna plantas herbáceas particularmente sujeitas ao artefato do vaso aberto, em adição à dificuldade de se trabalhar com ramos mais frágeis e menos lignificados (COCHARD *et al.*, 2013; LENS *et al.*, 2016).

Recentemente, Brodribb *et al.* (2016) desenvolveram um método de vulnerabilidade óptica que permite avaliar embolia em plantas intactas e pode ser empregado facilmente em análises com herbáceas, proporcionando progresso na pesquisa com tais plantas. Cardoso *et al.* (2018), avaliando a vulnerabilidade hidráulica em plantas de girassol cultivadas sob restrição hídrica, encontraram que a plasticidade no xilema e na sensibilidade estomática ao déficit hídrico permitiu a manutenção da integridade do sistema condutor e a extração de água do solo com maior segurança, ou seja, apresentaram menor vulnerabilidade hidráulica que os girassóis cultivados em boa condição hídrica. Essa alta plasticidade do xilema em girassol contrasta com dados obtidos em plantas lenhosas, podendo sugerir uma estratégia alternativa em espécies herbáceas. Johnson *et al.* (2018) também conduziram estudos utilizando a técnica citada anteriormente com o objetivo de avaliar se após indução do estresse e posterior reidratação, os vasos embolizados seriam repreenchidos e as taxas fotossintéticas em plantas de trigo seriam reestabelecidas, uma vez que estudos afirmam que a pressão radicular recupera vasos cavitados em gramíneas. No entanto, concluiu-se que a reidratação não proporcionou o repreenchimento dos vasos ou o reestabelecimento das taxas fotossintéticas, indicando que ambas as falhas ocorrem concomitantemente nessas plantas.

Os resultados de Johnson *et al.* (2018) e Cardoso *et al.* (2018) evidenciam a necessidade de uma maior compreensão do papel da vulnerabilidade hidráulica em espécies herbáceas e do seu papel na tolerância à seca. Neste estudo, foi utilizado o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), uma leguminosa de elevada importância nutricional, social e econômica (FROTA *et al.*, 2008; AGBICODO *et al.*, 2009). Possui notável tolerância ao calor e à seca, além de apresentar bom desenvolvimento em solos com baixa fertilidade. Devido à sua rusticidade, o feijão-caupi é amplamente cultivado em sistemas tradicionais nos trópicos semi-áridos da Ásia, África e

América Latina (EHLERS e HALL, 1997; SINGH *et al.*, 2003). No Brasil, a produção dessa leguminosa concentra-se nas regiões Norte e Nordeste onde seu cultivo é feito principalmente por agricultores familiares; contudo, o cultivo vem se expandindo para a região Centro-Oeste, principalmente para o Mato Grosso, passando a ser cultivado em larga escala (FREIRE FILHO, 2011; CONAB, 2019). A região Nordeste é a maior produtora nacional com 78% da área total de cultivo (1.183 ha na safra 2017/2018), porém com produtividade de apenas 394 kg/ha⁻¹ (CONAB, 2019). Contudo, o cultivo do feijão-caupi vem expandindo para a região Centro-Oeste, principalmente para o Mato Grosso, passando a ser cultivado em larga escala e utilizando alta tecnologia. Este investimento vem impactando a produtividade, que na safra 2017/2018 alcançou média de 1.045 kg/ha (FREIRE FILHO *et al.*, 2011; CONAB, 2019).

A deficiência hídrica é condição comum no Nordeste do País, sendo um dos principais fatores que comumente reduzem a produtividade do feijão-caupi. Essa condição tem levado os programas de melhoramento genético a procurarem cultivares mais tolerantes ao déficit hídrico, e, devido à alta variabilidade genética na espécie, existe ampla divergência na tolerância à seca entre cultivares disponíveis no mercado. Nascimento *et al.* (2011) analisaram o efeito do déficit hídrico sobre as características fisiológicas e produtivas do feijão-caupi e estabeleceram um ranking de tolerância à seca composto por 20 genótipos. Foi encontrado que os materiais mais sensíveis apresentaram maior aumento na temperatura foliar, redução acentuada na condutância estomática e valores mais negativos de potencial hídrico (maiores tensões no xilema). Rivas *et al.* (2016), comparando as cultivares Pingo de Ouro 1-2 (tolerante) e Santo Inácio (sensível), encontraram que a cultivar sensível atingiu Ψ_w mais negativos que a cultivar tolerante sob seca severa, comprometendo a recuperação das trocas gasosas após reidratação. Assim, estas informações sugerem maior susceptibilidade à falha hidráulica do xilema nos genótipos sensíveis evidenciando uma possível maior vulnerabilidade hidráulica.

Diante do exposto, as cultivares Pingo de Ouro 1-2 e Santo Inácio, consideradas as mais contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico, foram utilizadas para a caracterização fotossintética, determinação da arquitetura hidráulica, vulnerabilidade à cavitação e capacidade de recuperação das trocas gasosas. O foco no último componente (recuperação da condutância) é importante porque pode definir a taxa de recuperação das trocas gasosas após déficit hídrico, em que espécies com rápida recuperação podem ter vantagem sobre aquelas com recuperação mais lenta. Espera-se que todas estas avaliações atuem de forma integrada na elucidação das estratégias de manejo de água adotadas pela cultura do feijão-caupi e possam ajudar no desenvolvimento de variedades mais tolerantes ao déficit hídrico, seja no fornecimento de

indicadores para o uso em programas de melhoramento ou na indicação de cultivares que sejam melhores adaptadas para as condições climáticas de um dado local.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a associação entre vulnerabilidade à cavitação e tolerância à seca em plantas de feijão-caupi.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar a vulnerabilidade à cavitação em cultivares de feijão-caupi com tolerância diferencial à seca para averiguar se existe variabilidade genética na característica;
- Realizar uma detalhada caracterização fotossintética, em associação com a determinação de parâmetros de relações hídricas, de modo a entender como estes parâmetros interagem com os parâmetros hidráulicos;
- Identificar novas características relacionadas à arquitetura hidráulica de plantas de feijão-caupi que possam ser úteis na seleção de variedades mais promissoras para condições de déficit hídrico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal e aplicação dos tratamentos

Plantas de feijão-caupi de variedade tolerante (Pingo de Ouro 1-2) e sensível (Santo Inácio) (NASCIMENTO *et al.*, 2011) foram cultivadas (uma planta por vaso) a partir de sementes em vasos de 5,5 L preenchidos com 4 L de substrato composto por terra de barranco, areia e substrato comercial (2:1:1) por 30 dias, quando foram submetidas a regimes hídricos diferenciais: plantas continuamente irrigadas e plantas que passaram por um ciclo de desidratação e reidratação. No tratamento com reidratação, a desidratação foi imposta de forma severa, pela completa suspensão da irrigação, até que as plantas apresentassem danos visuais (folhas cloróticas) e início de abscisão foliar. Em seguida, as plantas foram reidratadas via elevação da umidade do solo. O tempo de recuperação foi acompanhado por meio de parâmetros fisiológicos (potencial hídrico e trocas gasosas). Sob as citadas condições, foram desenvolvidos dois experimentos, Experimento I com 6 dias e Experimento II com 15 dias de restrição hídrica. O controle da umidade do solo, bem como a reposição de água perdida (de acordo com cada tratamento) foi realizada através da pesagem diária dos vasos às 08:00 h (peso

1) e às 17:30 h (peso 2), utilizando balança digital de 30 kg. A primeira pesagem (dia zero) se refere a capacidade de retenção de água de cada vaso e subsequentemente os tratamentos foram impostos. O experimento foi em delineamento fatorial inteiramente casualizado, com duas cultivares (tolerante e sensível) e duas condições hídricas (controle e déficit hídrico) e cinco repetições para cada tratamento. No Experimento I, análises de trocas gasosas e coletas para anatomia (folhas expandidas) e massa seca foram realizadas no 6º dia de déficit hídrico (DH) e 2 dias após reidratação. No experimento II, as análises de trocas gasosas foram realizadas no 4º e 15º dia após suspensão da irrigação e 2 dias após reidratação e a anatomia (folhas em expansão) e massa seca no 15º dia e 2 dias após reidratação.

3.2. Curvas de vulnerabilidade hidráulica

As curvas de vulnerabilidade à cavitação (CV) dos dois genótipos foram construídas utilizando plantas de 30 dias cultivadas sob irrigação contínua. Para a construção das CVs, as plantas foram retiradas dos vasos, as raízes lavadas cuidadosamente para evitar danos e mantidas submersas em água para evitar possíveis induções de embolias. Dois folíolos, um para condutância estomática (g_s) e outro para a visualização do embolismo, foram monitorados continuamente e o déficit hídrico foi imposto ao retirar as raízes da água deixando-as expostas. A g_s foi mensurada a cada 3 minutos até o fechamento estomático máximo usando o sistema de trocas gasosas (LI-6400XT). As avaliações foram feitas sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e $400 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$. Adicionalmente, o potencial hídrico (Ψ_w) foliar foi mensurado em outras folhas da planta a cada 8 h, enquanto houve folhas viáveis, usando bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA).

A propagação dos eventos de embolismo foi avaliada seguindo o método da vulnerabilidade óptica desenvolvido por Brodribb *et al.* (2016). Neste método, os eventos de embolismo são detectados pelo monitoramento das mudanças na transmissão da luz através do xilema, onde vasos embolizados e funcionais diferem quanto às suas propriedades ópticas. Resumidamente, as folhas foram digitalizadas com lado adaxial voltado para a superfície do scanner (Epson perfection V800; Epson América) usando fita transparente e iluminadas por baixo para criar uma imagem da luz transmitida. Permitindo assim, que os eventos de embolismo fossem registrados durante a imposição do déficit hídrico. Para identificar e quantificar o embolismo, a análise de imagens foi realizada usando método de subtração no ImageJ (National Institute of Health, New York, NY, USA) para destacar as mudanças entre

imagens sucessivas na sequência de imagens produzidas durante processo de secagem da planta. Nesta série de imagens subtraídas, os pixels pretos representam qualquer evento óptico: cavitação, instabilidade das condições de luz e movimentos da folha ou de suas estruturas. Para separar o sinal (evento de cavitação) do ruído, as imagens diferenciais foram processadas e posteriormente examinadas para remoção manual do ruído. O grau de embolia foi calculado como o número cumulativo de pixels embolizados normalizados pelo número total de pixels embolizados ao longo da desidratação. Por fim, para visualizar a dinâmica da propagação do embolismo pela folha, os eventos foram coloridos em uma escala contínua com relação ao tempo em que apareceram e, ao plotar Ψ_{folha} , medido continuamente por meio de uma bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA), por eventos de embolismo em cada imagem, uma curva de vulnerabilidade óptica foi produzida para cada folha.

3.3. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila

Parâmetros de trocas gasosas, fluorescência da clorofila (Chl) *a* e respiração (R_d) foram determinados sob condições de casa de vegetação, utilizando-se do sistema de trocas gasosas (LI-6400XT) equipado com uma câmara integrada de fluorescência (LI-6400-40, LI-COR Inc.). A taxa líquida de assimilação de CO_2 (A), a condutância estomática ao vapor de água (g_s) e a concentração intercelular de CO_2 (C_i) foram medidas em folhas anexas, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial, isto é, $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em nível das folhas, e $400 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$. Todas as medições foram realizadas em condições ambientes de temperatura e déficit de pressão de vapor.

Depois de registrarem-se os parâmetros de trocas gasosas, o estado estacionário de rendimento de fluorescência (F_s) foi medido após aplicar-se um pulso de luz branca saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 0,8 s) para obter a fluorescência máxima do tecido foliar adaptado à luz (F_m'). A luz actínica foi então desligada e uma iluminação vermelho-distante aplicada ($2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para medir a fluorescência inicial do tecido foliar adaptado à luz (F_0'). A eficiência fotoquímica real do fotossistema (FS) II (F_{FSII}) foi determinada seguindo os procedimentos de Genty *et al.* (1989). A taxa de transporte de elétrons (TTE) foi então calculada a partir da equação $\text{TTE} = F_{\text{FSII}} \beta \alpha \text{PPFD}$, em que α é a absorvância foliar e β reflete o particionamento de elétrons absorvido entre os FS II e I. O produto $\beta \alpha$ foi determinado de acordo com Martins *et al.* (2013).

Para avaliar R_d , as folhas foram previamente aclimatadas por 30 minutos no escuro antes das medições e após mensurado tal variável, para a determinação de fluorescência da Chl *a*, as folhas foram inicialmente expostas a um fraco pulso de luz vermelho-distante ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtendo-se a fluorescência inicial (F_0). Em seguida, foi aplicado um pulso de luz saturante, com irradiância de $6000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 0,8 s, para a estimativa da fluorescência máxima emitida (F_m) e posterior cálculo da eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m). Enquanto que o estado estacionário de rendimento de fluorescência (F_s) foi medido aplicando-se um pulso de luz branca saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; 0,8 s) para obter a fluorescência máxima do tecido foliar adaptado à luz (F_m'). A luz actínica foi desligada e uma iluminação vermelho-distante aplicada ($2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para medir a fluorescência inicial do tecido foliar adaptado à luz (F_0'). A eficiência fotoquímica real do fotossistema (Fs) II (Φ_{FSII}) foi determinada de acordo com os procedimentos de Genty *et al.* (1989).

3.4. Relações hídricas e conteúdo de água da folha e do caule

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi medido às 6:00 h e 13:00 h utilizando-se de folhas completamente expandidas. Para a execução destas medições, as folhas foram encerradas em um saco plástico transparente de fecho hermético (ziplock) contendo papel toalha umedecido em seu interior, o qual foi armazenado numa caixa de isopor hermética para transporte até o laboratório, onde as medidas foram realizadas utilizando-se de uma bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA).

Para avaliações de teor relativo de água (TRA) e conteúdo saturado de água (CSA), como um parâmetro de suculência (VON WILLERT *et al.*, 1990), foram utilizadas folhas completamente expandidas e segmento de caule com 30 cm de comprimento, tais variáveis foram determinadas como:

$$\text{TRA (\%)} = (\text{MF-MS})/(\text{MT-MS}) \times 100 \text{ e}$$

$$\text{CSA} = (\text{MT-MS})/\text{MS}$$

Em que MF é massa fresca (g), MT é massa túrgida (g) e MS é massa seca (g) após 72 h em estufa a 60°C .

3.5. Características anatômicas

As folhas foram coletadas e fixadas em FAA70 durante 48 h, sendo posteriormente armazenadas em etanol aquoso 70% (v/v) (JOHANSEN, 1940). Amostras da região mediana de cada lâmina foliar foram embebidas em metacrilato (Historesin-Leica Microsystems

Nussloch, Heidelberg, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante. Cortes transversais (5 µm de espessura), foram obtidos utilizando-se um micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2155, Leica Microsystems Inc., Derfeld, USA), corados com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1964) e montados em resina sintética (Permount).

Para a obtenção das densidades estomática e de venação, as folhas foram diafanizadas conforme descrito em Zsögön *et al.* (2014) com modificações: as amostras foliares foram clarificadas em metanol 100% durante 48h em temperatura ambiente. Após a perda total da pigmentação, foram incubadas em ácido láctico a 95% e aquecidas em banho-maria a 100°C por duas horas, até a obtenção de uma amostra totalmente transparente. As lâminas histológicas foram montadas em gelatina glicerinada e colocadas para secar à temperatura ambiente.

As laminas foram fotografadas em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan), acoplado a câmera fotográfica digital (Zeiss AxioCan HRc, Göttinger, Germany) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axiion Vision. Os seguintes dados anatômicos foram quantificados utilizando-se de um programa de análise de imagens (Image Pro-Plus, versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA): espessura do limbo, espessura dos parênquimas paliçádico (PP), lacunoso (PL), epiderme superior e inferior, espaços intercelulares, densidade estomática (DE), índice estomático (IE) e diâmetro polar dos estômatos.

Conduitos da nervura central do xilema foram analisados (quantidade e diâmetro interno) para determinar a condutância hidráulica axial teórica (K_t) e tratados como elipses para calcular K_t , como:

$$K_t = \sum [\pi a^3 b / 64 \eta (a^2 b^2)]$$

em que a e b são os diâmetros internos maior e menor dos conduitos, e η é a viscosidade da água a 25°C. O sinal de somatório se refere à soma da condutividade de todos os conduitos que serão medidos.

Foram ainda determinadas área foliar específica (AFE) e área foliar unitária. As folhas foram digitalizadas (HP Deskjet vnF2050) para obter a área foliar, secas até peso constante e AFE foi determinada como:

$$AFE \text{ (cm}^2\text{g}^{-1}\text{)} = \text{área foliar (cm}^2\text{)} / \text{massa seca (g)}$$

3.6. Análises estatísticas

As análises estatísticas de trocas gasosas, características anatômicas e conteúdo de águas da olha e do caule foram realizadas com o software SAS Learning Edition 4.1® (SAS Institute,

2006) a 5% de probabilidade. Os dados foram submetidos a análise de variância e as diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste LSD. Os resultados das curvas de vulnerabilidade foram submetidos ao Teste-*t* de Student. Os efeitos do genótipo e da deficiência hídrica nas distribuições da classe de tamanho dos vasos foram avaliados pelo teste de homogeneidade do qui-quadrado de Pearson (χ^2)

4. RESULTADOS

4.1. Anatomia foliar

Ao decorrer dos dias sob déficit hídrico (DH), percebemos que as plantas sob estresse mantiveram os trifólios em expansão com aspecto mais saudável que as folhas expandidas, por isso, foram realizadas análises de trocas gasosas e anatômicas em folhas expandidas e em expansão.

Em geral, o DH não ocasionou diferenças significativas nas características anatômicas das folhas expandidas das duas cultivares, causando apenas redução (25%) na espessura do parênquima lacunoso na cultivar SI. Entretanto, comparando as cultivares sob mesma condição hídrica, Pingo de Ouro controle (PO CT) apresentou maiores espessura foliar, espessura do parênquima paliçádico, espessura do parênquima lacunoso, PP/PL e menor densidade estomática abaxial do que Santo Inácio controle (SI CT) (Tabela 1). Por outro lado, em relação às folhas em expansão, houve maior plasticidade das características sob DH. A cultivar SI sob DH apresentou menor espessura do parênquima paliçádico (26%) quando comparada com SI CT. Por sua vez, PO na condição de DH teve menores espessura do parênquima paliçádico (30%), PP/PL (13%) e espaços intercelulares (50%) em relação ao seu controle. Avaliando as cultivares na mesma condição, foi encontrado diferenças significativas apenas nos espaços intercelulares (maior em PO CT, 95%) (Tabela 1).

Tabela 1. Características anatômicas de folhas expandidas e em expansão de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Folhas expandidas e em expansão foram coletadas nos experimentos I e II, respectivamente. *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica utilizando teste LSD. Média ± EP (n = 4-7).

Característica Anatômica	Pingo De Ouro 1-2				Santo Inácio			
	Controle		Déficit Hídrico		Controle		Déficit Hídrico	
	Folhas Expandidas							
Espessura foliar (µm)	373.1 ± 29.06A	342.1 ± 15.00A	265.2 ± 15.32B	222.5 ± 13.83B				
Espessura do parênquima paliçádico (PP) (µm)	139.2 ± 17.91A	124.9 ± 4.16A	82.1 ± 6.78B	72.7 ± 8.01B				
Espessura do parênquima lacunoso (PL) (µm)	189.8 ± 11.79A	163.9 ± 10.58A	144.5 ± 7.87*B	107.7 ± 8.88B				
PP/PL	0.7 ± 0.08A	0.8 ± 0.03A	0.6 ± 0.02B	0.7 ± 0.05A				
Espaços intercelulares (%)	15.1 ± 1.75A	14.8 ± 2.35A	14.1 ± 0.88A	9.9 ± 1.71A				
Densidade venação (mm de nervura/mm² de folha)	8.4 ± 0.48A	7.9 ± 0.25A	8.5 ± 0.53A	8.5 ± 0.56A				
Densidade estomática adaxial (n° de estômatos/mm²)	82.3 ± 7.60A	89.1 ± 8.97A	74.9 ± 4.61A	78.4 ± 2.54A				
Densidade estomática abaxial (n° de estômatos/mm²)	193.4 ± 10.75B	215.2 ± 24.87B	254.6 ± 29.57A	277.9 ± 12.38A				
	Folhas em Expansão							
Espessura foliar (µm)	279.1 ± 12.06A	229.9 ± 22.81A	256.1 ± 12.67A	221.2 ± 20.14A				
Espessura do parênquima paliçádico (PP) (µm)	84.7 ± 1.21*A	59.5 ± 8.01A	71.8 ± 3.51*A	53.2 ± 4.62A				
Espessura do parênquima lacunoso (PL) (µm)	133.2 ± 5.55A	107.3 ± 13.66A	115.8 ± 5.66A	100.6 ± 12.17A				
PP/PL	0.64 ± 0.034*A	0.55 ± 0.024A	0.62 ± 0.010A	0.54 ± 0.030 A				
Espaços intercelulares (%)	14.3 ± 1.98*A	7.1 ± 1.12A	7.3 ± 0.64B	4.3 ± 1.05A				
Densidade de venação (mm de nervura/mm² de folha)	10.2 ± 0.68A	11.1 ± 0.89A	11.5 ± 0.75A	11.2 ± 0.70A				
Densidade estomática adaxial (n° de estômatos/mm²)	90.6 ± 16.98A	137.0 ± 13.95A	150.0 ± 14.20A	186.7 ± 24.20A				
Densidade estomática abaxial (n° de estômatos/mm²)	317.1 ± 48.56A	399.4 ± 18.48A	402.7 ± 20.35A	411.9 ± 26.84A				

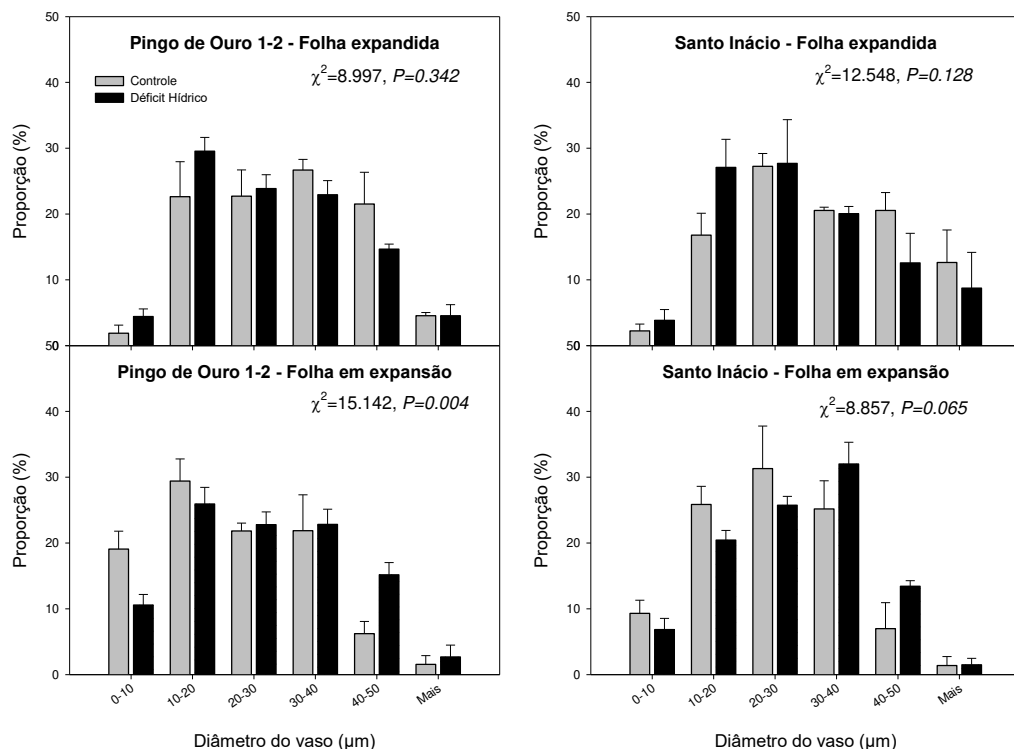
Tabela 2. Características anatômicas do xilema do pecíolo e da nervura central de folhas expandidas e em expansão: número de vasos (NV, unidade); diâmetro hidráulico médio de condutos do xilema do pecíolo (D_h médio, μm); diâmetro hidráulico máximo de condutos do xilema do pecíolo (D_h máximo, μm); condutividade teórica do conduto do pecíolo (K_t , $\text{mmol MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$). Folhas expandidas e em expansão foram coletadas nos experimentos I e II, respectivamente. *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica utilizando teste LSD. Média \pm EP (n = 4-7).

Características Hidráulicas – Pecíolo	Pingo De Ouro 1-2				Santo Inácio			
	Controle		Déficit Hídrico		Controle		Déficit Hídrico	
	Folhas Expandidas							
NV	142.0	\pm 12.90A	171.0	\pm 12.86A	113.5	\pm 8.31A	111.0	\pm 11.85B
D_h médio	30.5	\pm 1.74A	27.8	\pm 1.09A	33.6	\pm 1.91A	29.5	\pm 3.72A
D_h máximo	58.2	\pm 0.81A	57.3	\pm 2.40A	66.2	\pm 5.45A	64.6	\pm 12.85A
K_t	0.33	\pm 0.019A	0.32	\pm 0.028A	0.48	\pm 0.118A	0.33	\pm 0.145A
	Folhas em Expansão							
NV	111.8	\pm 10.89A	87.7	\pm 7.51A	86.0	\pm 8.50A	82.8	\pm 5.98A
D_h médio	22.2	\pm 0.42*B	26.5	\pm 0.67A	24.9	\pm 1.73*A	27.9	\pm 0.37A
D_h máximo	48.5	\pm 3.38A	52.7	\pm 2.36A	46.1	\pm 4.81A	50.6	\pm 1.88A
K_t	0.12	\pm 0.018A	0.15	\pm 0.016A	0.10	\pm 0.024A	0.14	\pm 0.014A
	Folhas Expandidas							
Características Hidráulicas – Nervura Central								
NV	50.5	\pm 6.91A	53.0	\pm 4.53A	35.8	\pm 5.62A	43.3	\pm 2.31A
D_h médio	26.0	\pm 0.78*A	31.2	\pm 0.59A	29.8	\pm 2.05A	27.8	\pm 3.77A
D_h máximo	43.1	\pm 2.86A	47.2	\pm 6.04A	53.2	\pm 6.62A	47.8	\pm 6.21A
K_t	0.06	\pm 0.016A	0.11	\pm 0.020A	0.08	\pm 0.035A	0.08	\pm 0.035A
	Folhas em Expansão							
NV	38.3	\pm 2.10 A	33.2	\pm 3.20 A	27.3	\pm 3.79 A	30.2	\pm 4.22 A
D_h médio	25.9	\pm 0.34 A	26.0	\pm 1.45 A	23.4	\pm 1.52 A	24.3	\pm 2.44 A
D_h máximo	41.3	\pm 2.40 A	42.0	\pm 2.02 A	38.4	\pm 1.14 A	41.5	\pm 3.07 A
K_t	0.04	\pm 0.007 A	0.04	\pm 0.006 A	0.02	\pm 0.004 A	0.04	\pm 0.016 A

Em adição, independente da cultivar e do regime hídrico, as folhas em expansão apresentaram densidade estomática abaxial e densidade de venação significativamente maiores que as folhas expandidas, comportamento ocasionado provavelmente por efeito de concentração, haja visto que as células não atingiram grau máximo de expansão.

Já nas características anatômicas do xilema do pecíolo, não houve efeito do DH em ambas as cultivares nas folhas expandidas, estas apresentaram D_h médio e D_h máximo semelhantes, $30 \pm 1,1$ e $62 \pm 3,0$ μm , respectivamente (Tabela 2). Por outro lado, nas folhas em expansão, PO DH e SI DH apresentaram maior D_h médio ($27 \pm 0,4$ μm) quando comparadas com as cultivares no tratamento CT ($23 \pm 0,7$ μm) e, semelhante às folhas expandidas, não diferiram no D_h máximo ($50 \pm 1,4$ μm). Apesar do maior D_h médio, as cultivares não diferiram na condutividade teórica do xilema (K_t). Dentre as diferenças significativas entre cultivares na mesma condição hídrica, sob DH notamos que as folhas expandidas da cultivar SI apresentaram menos vasos (111 unidades) que PO DH (171 unidades) (Tabela 2).

Figura 1. Frequência de distribuição de diâmetros hidráulicos de vasos do xilema do pecíolo em duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível).

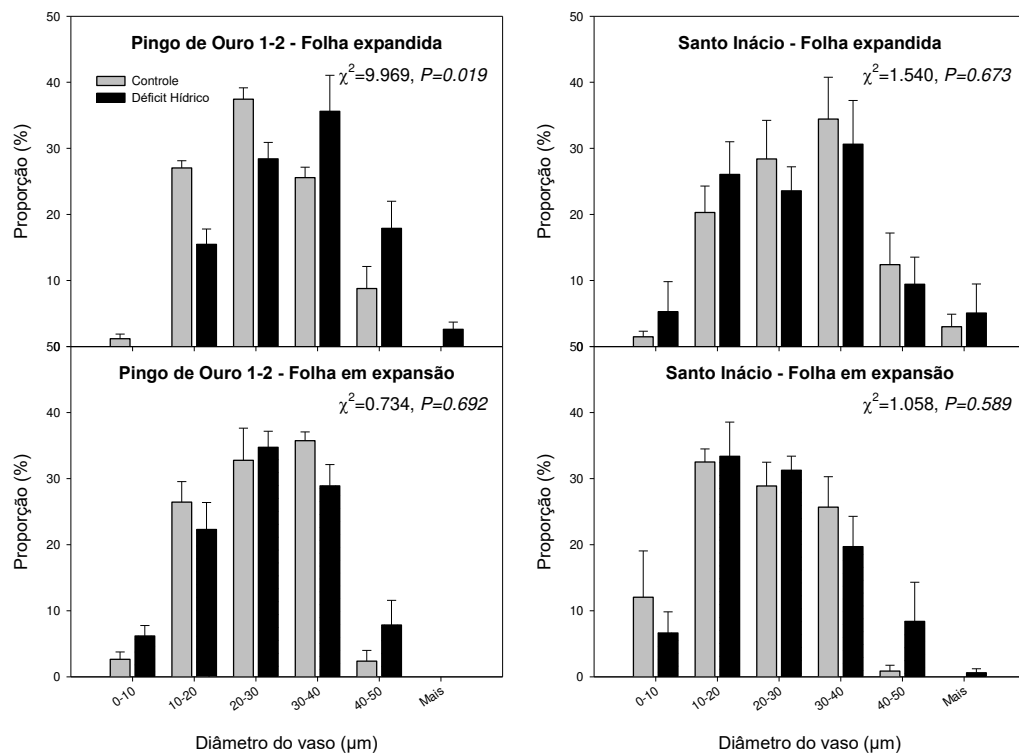


Nas características anatômicas do xilema da nervura central não foram encontradas diferenças significativas nem entre condições hídricas, nem entre cultivares. As folhas expandidas apresentaram valores médios de NV, D_h médio e D_h máximo iguais a 46 unidades,

29 e 48 μm , respectivamente; para as folhas em expansão, de NV, D_h médio e D_h máximo foram 32 unidades, 25 e 40 μm , respectivamente (Tabela 2).

A distribuição da frequência de diâmetros dos vasos do xilema do pecíolo de folhas expandidas e em expansão apresentou padrões semelhantes entre as cultivares avaliadas (Figura 1). Ressalta-se que pelo teste qui-quadrado de Pearson (χ^2), as folhas expandidas não apresentaram diferença entre controle e déficit hídrico na distribuição dos vasos, enquanto as folhas em expansão tenderam apresentar mais vasos de maior diâmetro quando submetidas ao DH, contudo essa diferença alcançou maior significância em PO ($\chi^2=15,1$; $P=0.004$) do que em SI ($\chi^2=8,9$; $P=0.065$). No xilema da nervura central a diferença foi significativa apenas nas folhas expandidas da cultivar PO ($\chi^2=9,9$; $P=0.019$) (Figura 2).

Figura 2. Frequência de distribuição de diâmetros hidráulicos de vasos do xilema da nervura central em duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível).



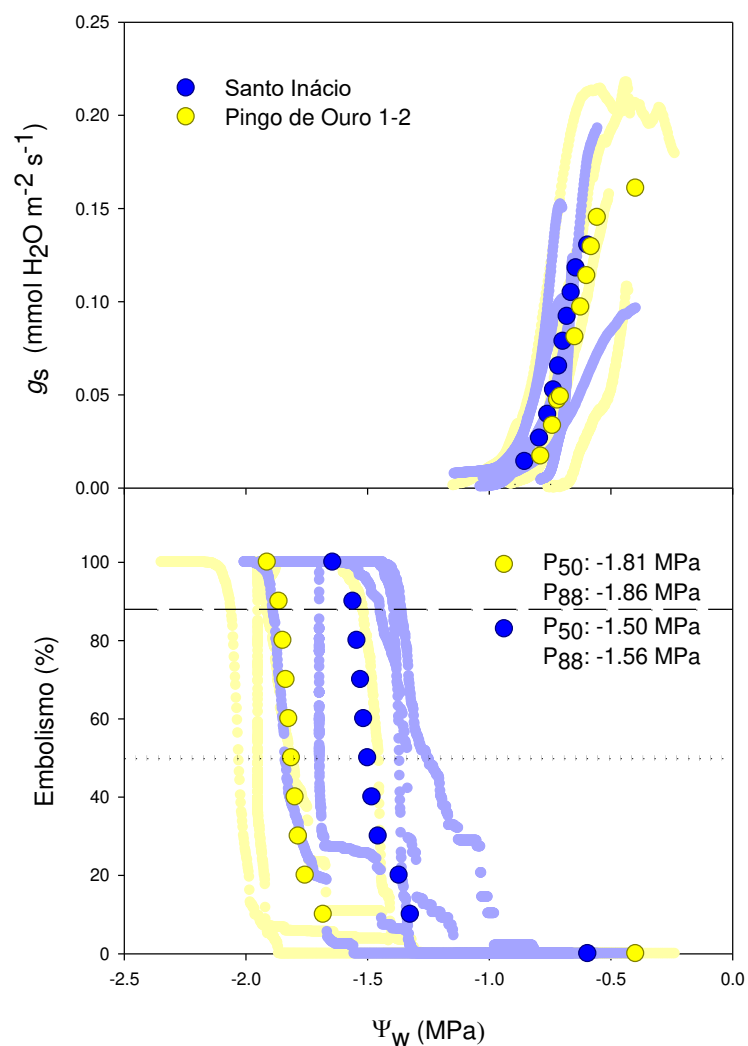
4.2. Vulnerabilidade hidráulica

As cultivares apresentaram curvas de vulnerabilidade hidráulica semelhantes e com comportamento sigmoideal. Ressalta-se que, para ambos indivíduos, eventos de cavitação só foram detectados quando houve redução de mais de 90% da abertura estomática. Os eventos de cavitação seguiram uma hierarquia entre as nervuras, iniciando pelas nervuras central e

secundárias, seguindo pelas demais nervuras menores. Esse padrão de propagação de embolismo foi observado na maioria das folhas analisadas.

Após início da desidratação, a condutância estomática apresentou desempenho semelhante entre PO e SI, em que 80% de fechamento estomático ocorreu em Ψ_w médio de $-0,75 \pm 0,04$ MPa (Figura 3).

Figura 3. Condutância estomática (g_s) e embolismo em função do potencial hídrico (Ψ_w) da folha. Círculos amarelos representam a cultivar Pingo de Ouro 1-2 (tolerante) e azuis a cultivar Santo Inácio (sensível). Círculos escuros: média de cada cultivar. Círculos claros: comportamento de cada repetição. Linha horizontal pontilhada: P_{50} ; linha horizontal tracejada: P_{88}

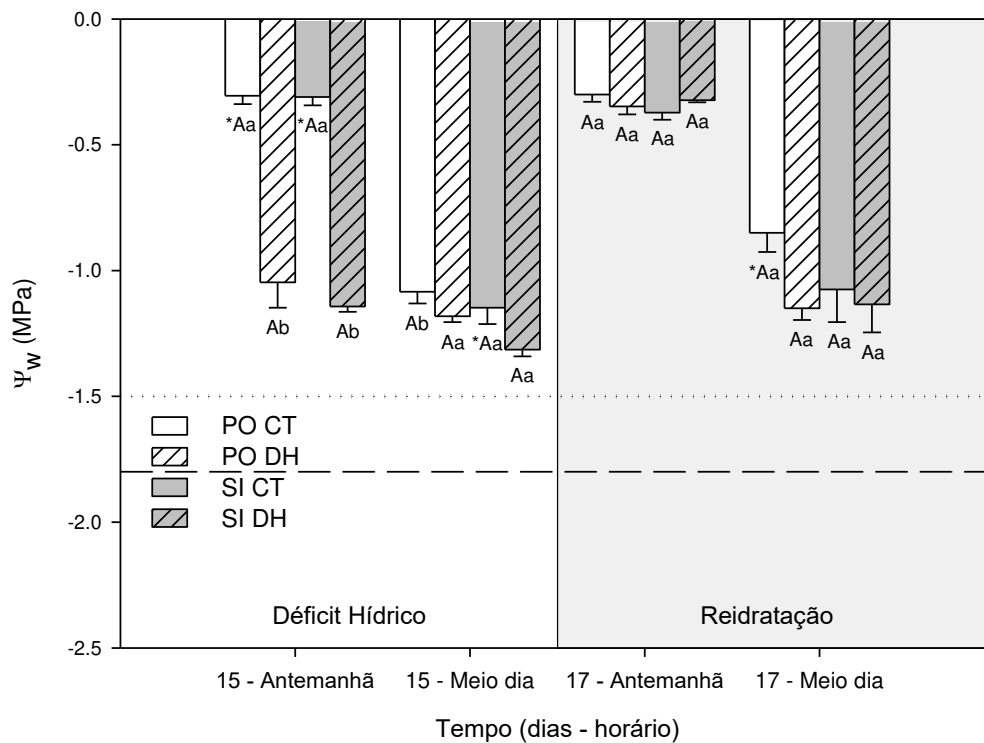


O P_{50} e P_{88} (potencial hídrico correspondente a 50 e 88% de vasos de xilema embolizados) não revelaram diferenças significativas (teste t, $P < 0,05$) entre as cultivares, apresentando valor médio de $-1,64$ e $-1,69$ MPa, respectivamente. Entretanto, foram

encontradas diferenças para o tempo em que alcançaram o P_{88} , a cultivar tolerante demorou, $53 \pm 2,5$ h, enquanto a sensível gastou $38 \pm 5,3$ h (Tabela S1).

Quando avaliadas em casa de vegetação, após 15 dias do início da restrição hídrica, as plantas sob DH apresentaram Ψ_w da antemanhã muito próximos aos valores do meio-dia, indicando mínima taxa transpiratória. Ressalta-se que o valor do Ψ_w da antemanhã sob DH foi semelhante ao Ψ_w medido nos CT, sugerindo esse valor de Ψ_w como um limite de segurança (Figura 4). O período de reidratação foi suficiente para igualar Ψ_w da antemanhã, demonstrando a capacidade de reidratação dessas plantas. Contudo, baseado nos resultados obtidos com as curvas de vulnerabilidade, os 15 dias de estresse não foram suficientes para as cultivares atingirem seus respectivos P_{50} , de tal modo que espera-se que PO não tenha tido embolismo, enquanto que nos indivíduos de SI, são esperados níveis de embolismo entre 10 e 30%.

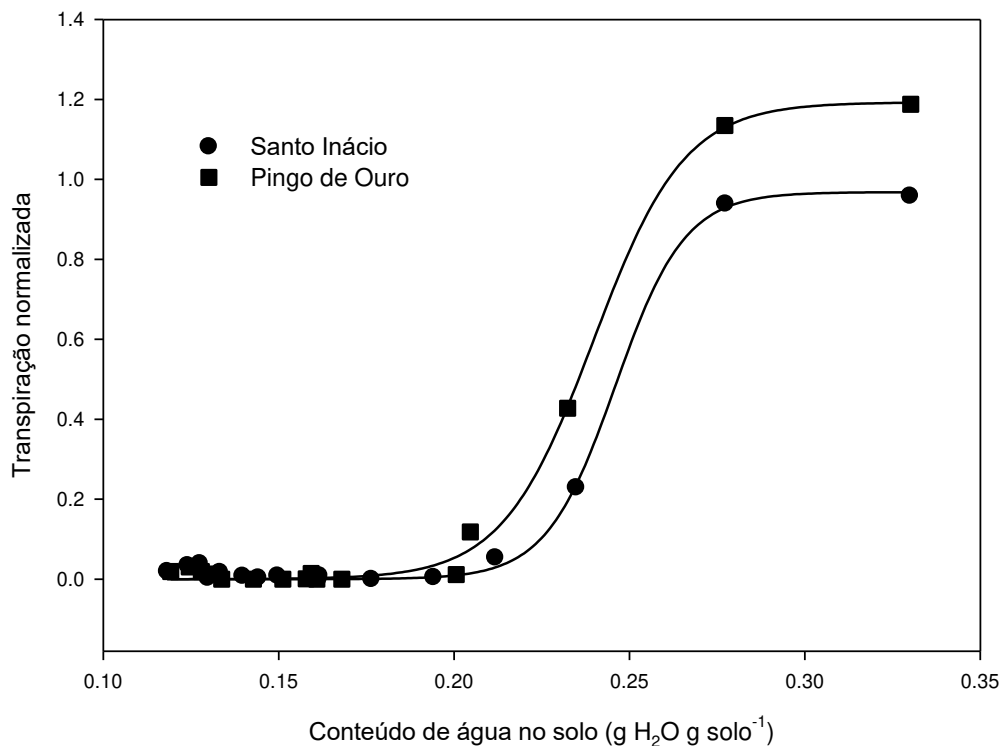
Figura 4. Potencial hídrico (Ψ_w) em função dos dias após início do déficit hídrico em duas cultivares de feijão-caupi. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH) cultivadas em casa de vegetação. Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Linha pontilhada: P_{50} Santo Inácio, Linha tracejada: P_{50} Pingo de Ouro 1-2. *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar e mesmo horário. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica mesmo horário. Letras minúsculas: diferença significativa entre dias de avaliação para mesma cultivar em semelhante condição hídrica utilizando teste LSD. Média \pm EP (n = 4-7).



4.3. Experimentos I e II

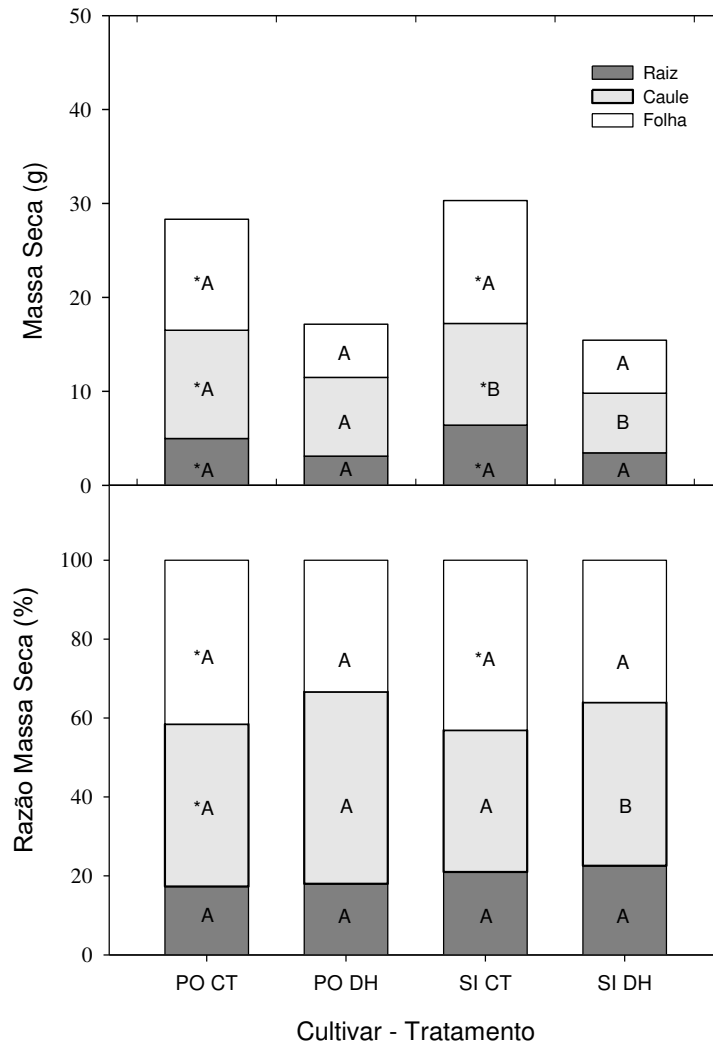
Quando analisada a transpiração em nível de planta inteira em função do conteúdo de água no solo, as cultivares apresentaram resultado semelhante (Figura 5). A redução em 50% do máximo de transpiração ocorreu em $0,246 \text{ g H}_2\text{O g solo}^{-1}$ para PO e $0,240 \text{ g H}_2\text{O g solo}^{-1}$ para SI. Adicionalmente, ambas as cultivares cessaram sua transpiração após quatro dias de déficit.

Figura 5. Transpiração de planta inteira sob déficit hídrico normalizada pela transpiração do controle em função do conteúdo de água no solo em duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível) sob déficit hídrico por 15 dias.



Seis dias de restrição hídrica foram suficientes para redução significativa da massa seca de ambas as cultivares (Figura 6). Destacando a massa seca do caule da cultivar SI, que foi menor que a PO tanto no controle quanto sob déficit. Em relação ao investimento de biomassa, a cultivar sensível sob DH apresentou menor investimento em caule quando comparado com a tolerante em mesma condição.

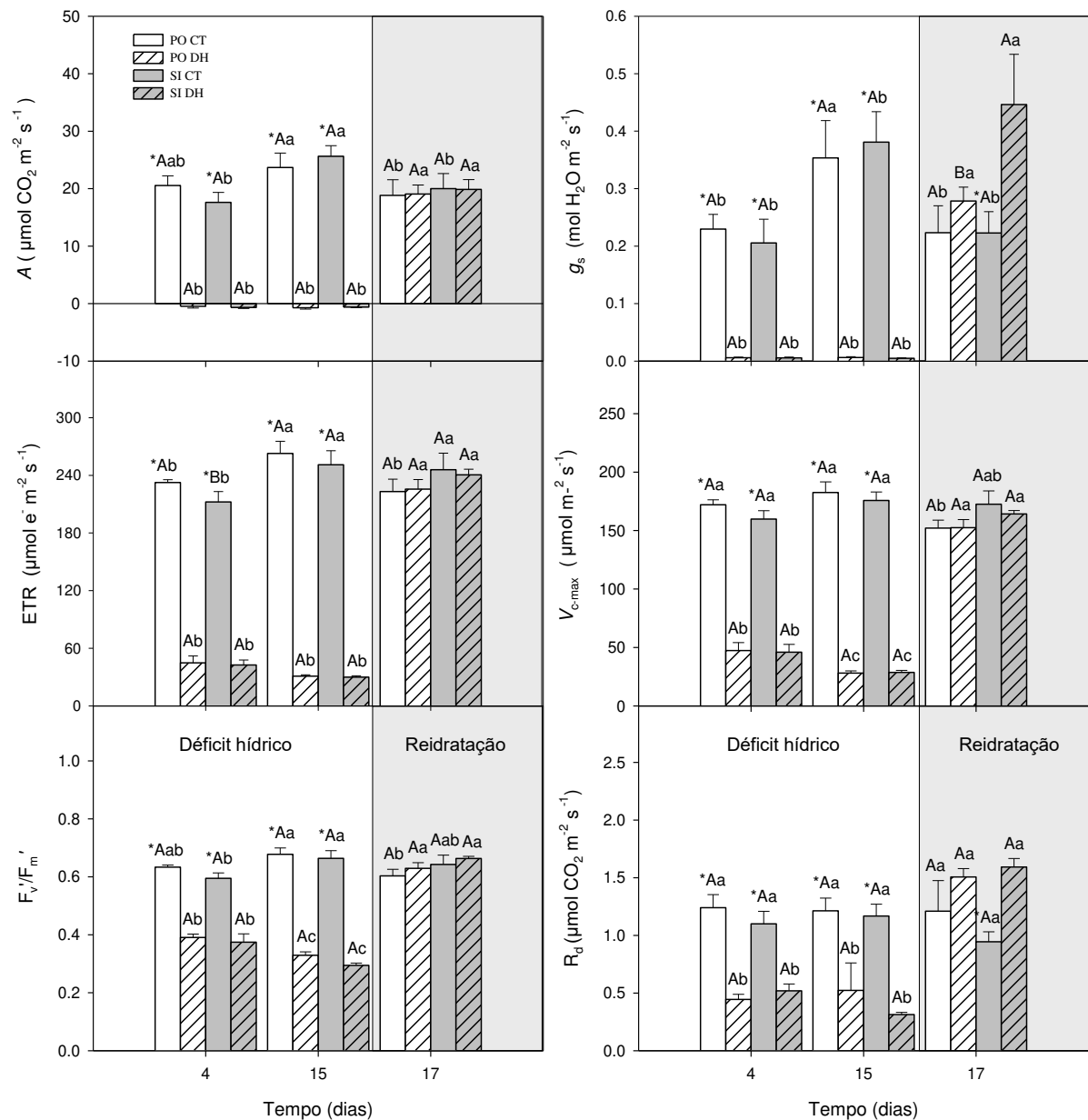
Figura 6. Massa seca e alocação de massa seca em duas cultivares de feijão-caupi submetidas a 6 dias de déficit hídrico seguidos por 2 dias de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico para mesma cultivar e mesmo ponto de coleta; Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares em uma mesma condição hídrica e dias de coleta utilizando teste LSD. Média \pm EP (n = 4-7).



De maneira geral, os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila (A , g_s , TTE, V_{cmax} , F_v'/F_m' e R_d) foram reduzidos significativamente nas duas cultivares sob quatro dias de estresse (Figura 7), afetando-as de forma similar, onde A dos tratamentos controle alcançaram valores médios de $19 \pm 1,2$ (4 dias) e $25 \pm 1,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (15 dias), e os tratamento sob déficit apresentarem valores negativos já aos 4 dias (Figura 7). Tais quedas fotossintéticas foram ocasionadas tanto por limitações difusivas (98% de queda em g_s), quanto bioquímicas (72% de queda em V_{cmax}). Reduções tão expressivas em g_s no quarto dia de estresse são corroboradas pela cessação da transpiração de planta inteira, que também ocorreu no mesmo

período (Figura 5). O estresse também afetou drasticamente as taxas de R_d , as quais foram reduzidas em 57% (PO) e 73% (SI) ao final dos 15 dias do tratamento.

Figura 7. Taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa de transporte de elétrons (ETR), velocidade de carboxilação máxima (V_{cmax}), eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m'), respiração noturna (R_d) em função dos dias após início do déficit hídrico em folhas expandidas de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica. Letras minúsculas: diferença significativa entre dias de coleta para mesma cultivar em semelhante condição hídrica utilizando teste LSD. Média \pm EP ($n = 4-7$).



As plantas apresentaram recuperação dos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência em apenas dois dias de reidratação, tempo já encontrado em experimentos anteriores (dados não apresentados), de tal modo que, em nenhum dos parâmetros, os valores dos tratamentos sob déficit hídrico foram significativamente menores que os controles. Destaque para a cultivar SI que estava sob DH e obteve maior g_s ($0,446 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) do que a cultivar PO ($0,278 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), contudo a performance de A foi semelhante entre os tratamentos, sugerindo que PO apresenta maior eficiência intrínseca do uso da água. Adicionalmente, a cultivar SI alcançou taxas respiratórias maiores na reidratação (69%) nas plantas que estavam sob estresse do que nas plantas mantidas com irrigação regular. Ressalta-se que não foram encontradas diferenças entre respostas de folhas expandidas e em expansão ao DH nos parâmetros avaliados (Figura S1).

Medindo a condição hídrica que as plantas sob estresse estavam no período final da deficiência hídrica, a cultivar PO alcançou TRA de 70% e SI 67%, ambos menores que as plantas sob condição controle (Figura 8). Em ensaios realizados anteriormente, o menor TRA alcançado por plantas de feijão-caupi, após 25 dias de déficit hídrico, foi de 66% (dados não apresentados). Avaliando o conteúdo saturado de água, foram encontrados conteúdos maiores para as plantas sob estresse, onde após reidratação, apresentaram valores médios $7,4 \pm 0,37$ e $8 \pm 0,18$ enquanto as plantas controle apresentaram $3,5 \pm 0,52$ e $4,3 \pm 0,37$ para PO e SI, respectivamente. Comportamento semelhante também foi observado na AFE, tanto no período final do déficit hídrico quanto pós reidratação, as duas cultivares sob estresse apresentaram aumentos significativo nesse parâmetro, variando de 63 a 119%. Destaca-se a cultivar PO DH que apresentou um aumento de 32% após reidratação, quando comparado com 15º dia de restrição hídrica (Figura S2). Tanto os resultados relacionados ao conteúdo saturado de água quanto de AFE são reflexo da menor massa seca nessas condições.

As medidas relacionadas ao caule, as quais foram baseadas em um fragmento de 30 cm a partir do colo da planta, demonstraram que as massas secas dos tratamentos sob estresse foram significativamente menores, atingindo quedas de 28% na PO e 55 % na SI durante o período de estresse e 42% na PO e 68% na SI após reidratação (Figura 9). A massa túrgida foi sempre maior em SI CT que nos outros tratamentos. Se comparado com a condição hídrica das folhas, o caule conseguiu manter melhor status hídrico, sustentando TRA de 84% para ambas cultivares. Em relação ao conteúdo saturado de água por massa seca do caule, assim como nas folhas, também encontramos conteúdos maiores para as plantas sob estresse, destacando a cultivar SI DH que apresentou maior valor ($9 \pm 0,3$) ao comparar com PO DH ($5,2 \pm 0,57$), um

comportamento presumível considerando que as reduções na massa seca foram proporcionalmente maiores para essa cultivar nesta condição.

Figura 8. Massa seca, massa túrgida, teor relativo de água (TRA) e conteúdo saturado de água na folha por massa seca (CSA_F/MS) em folhas expandidas de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica. Letras minúsculas: diferença significativa entre dias de coleta para mesma cultivar em semelhante condição hídrica utilizando teste LSD. Média \pm EP (n = 4-7).

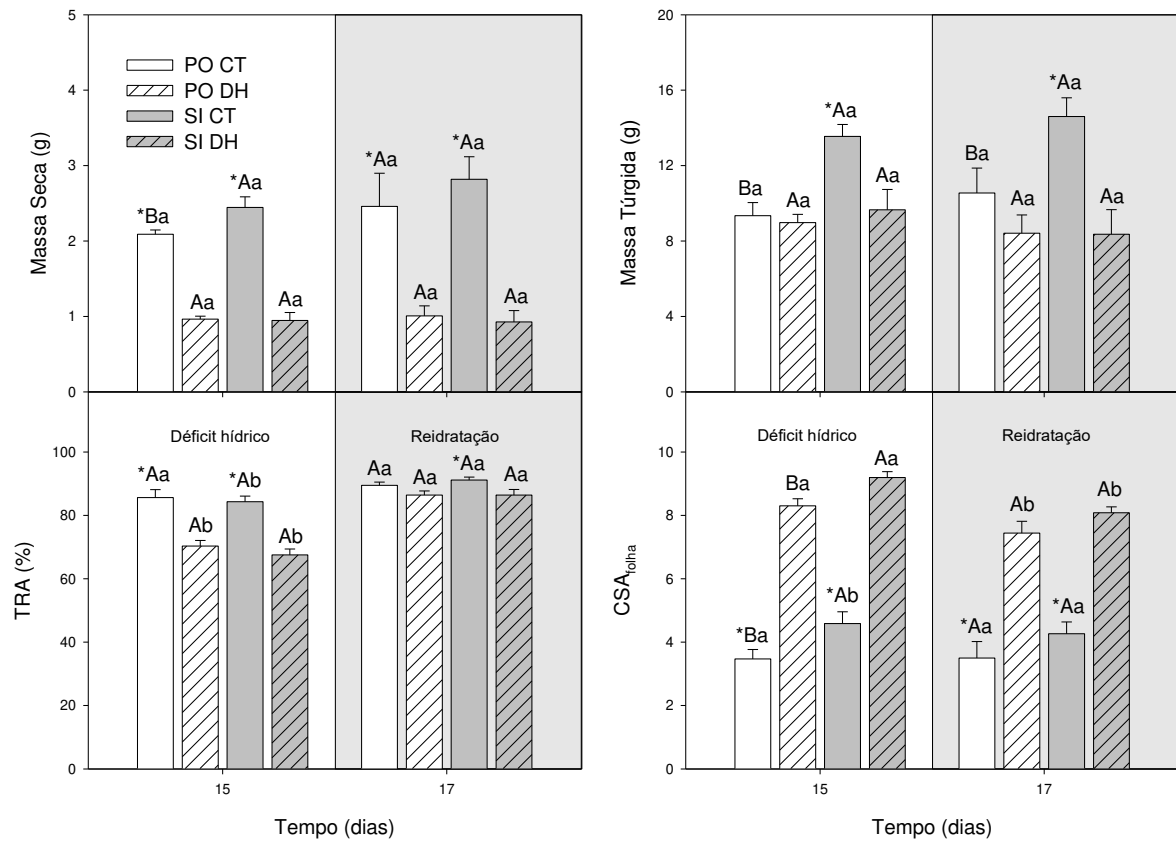
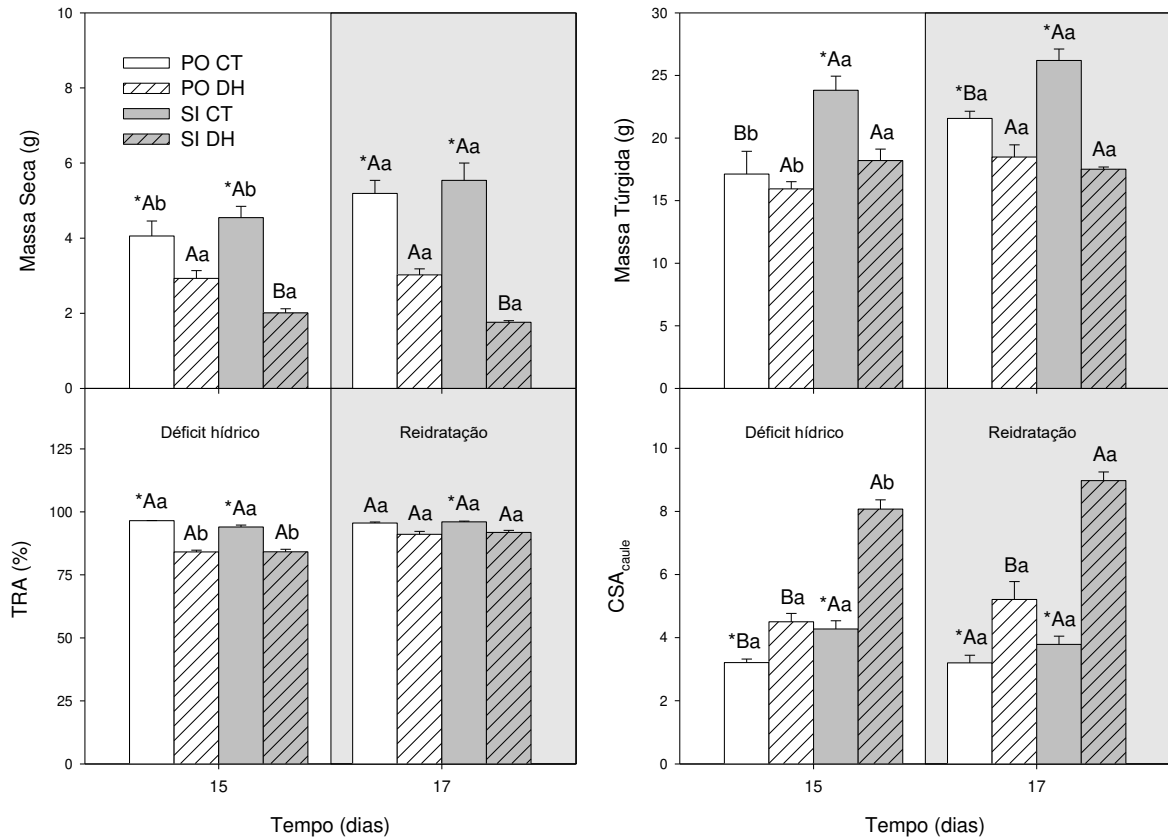


Figura 9. Massa seca, massa túrgida, teor relativo de água (TRA) e conteúdo saturado de água no caule por massa seca (CSA_{caule}/MS) de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). *: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro da mesma cultivar. Letras maiúsculas: diferença significativa entre cultivares sob a mesma condição hídrica. Letras minúsculas: diferença significativa entre dias de coleta para mesma cultivar em semelhante condição hídrica utilizando teste LSD. Média \pm EP (n = 4-7).



5. DISCUSSÃO

Apesar do feijão-caupi manifestar uma série de características fisiológicas e morfológicas em resposta à seca (MUCHERO *et al.*, 2008), aparentemente a manutenção de elevado status hídrico (maiores Ψ_w e TRA) sob seca parece ser intrínseco às cultivares mais tolerantes (AGBICODO *et al.*, 2009). Dado a importância das características hidráulicas na determinação do Ψ_w e de recentes estudos associando eventos de cavitação com danos fotossintéticos (CARDOSO *et al.*, 2018), este trabalho procurou preencher estas lacunas utilizando duas cultivares de feijão-caupi visando aumentar a compreensão de variáveis hidráulicas na tolerância à seca em espécies herbáceas.

As cultivares não apresentaram diferenças no comportamento estomático e na propagação do embolismo (P_{50} e P_{88}) em função do Ψ_w ; em contrapartida, houve diferença quando comparado o tempo que cada uma levou para chegar ao P_{88} , de tal modo que a cultivar

PO se comporta como mais tolerante que SI, conforme previamente determinado. Interessantemente, SI foi a cultivar que apresentou os maiores conteúdos saturados de água (CSA) na folha e caule (Figs 8 e 9) e também a maior densidade estomática (Tabela 1). É possível que a cultivar tenha elevada condutância cuticular e/ou baixa capacitância, conferindo maior taxa de perda de água associada ao baixo tamponamento do Ψ_w . Ambas cultivares apresentaram total fechamento estomático antes de serem observados embolismo, sugerindo que o controle estomático ocorre de forma a prevenir a falha hidráulica e, assim, proteger a integridade vascular da folha. Resultados semelhantes foram encontrados por John *et al.* (2018), que encontraram a maior parte do fechamento estomático ocorrendo antes da folha perder sua capacidade de reidratação, o que acredita-se acontecer próximo do início dos eventos de embolismo (JOHNSON *et al.*, 2018).

O P_{50} médio das folhas foi de $-1.64 \pm 0,096$ MPa, valor bem próximo ao P_{50} médio (-2.3 MPa), referente à caules de 16 espécies de herbáceas eudicotiledôneas, encontrado em metanálise realizada por Lens *et al.* (2016), valor este, estatisticamente igual ao P_{50} médio de gramíneas e lenhosas angiospermas. Diferente do encontrado neste estudo, diferenças intraespecíficas de P_{50} foram encontradas no caule em quatro acessos de girassol, com valores variaram entre -2.7 e -3.2 MPa (AHMAD *et al.*, 2017) e entre dois híbridos de milho (LI *et al.*, 2009). Contudo, é importante ressaltar que como diferentes técnicas e números de indivíduos foram usados para encontrar os P_{50} , a acurácia da comparação dos dados é limitada. Também é preciso ter cuidado ao comparar vulnerabilidade entre órgãos; apesar de algumas espécies não apresentarem segmentação hidráulica como o tomateiro (SKELTON *et al.*, 2017), outras como a oliveira (RODRIGUEZ - DOMINGUEZ *et al.*, 2018) e uva (CHARRIER *et al.*, 2016) apresentam forte segmentação.

O método de vulnerabilidade óptica proporcionou imagens claras das propagações de embolismo nas folhas de feijão-caupi. A vulnerabilidade hidráulica das plantas, baseada no comportamento das folhas, apresentou grande variabilidade (-1.2 a -2.0 MPa) entre os indivíduos de ambas as cultivares. Rodriguez-Dominguez *et al.* (2018) ao avaliar vulnerabilidade em folhas de oliveiras usando o método de vulnerabilidade óptica, também encontrou alto grau de variabilidade no P_{50} entre os indivíduos estudados, considerando o P_{50} como uma característica relativamente plástica. Essa plasticidade pode desempenhar papel importante na aclimatação à seca em plantas, como foi evidenciado por Cardoso *et al.* (2018) em pesquisa com girassol que encontrou uma plasticidade coordenada entre o P_{50} e o potencial

osmótico nas folhas, garantindo maior segurança hidráulica e capacidade de extração de água sob seca.

A modulação da arquitetura do xilema do pecíolo tem se mostrado importante na variabilidade no comportamento hidráulico entre cultivares de videira submetida à seca (HOCHBERG *et al.*, 2014) e também na determinação da condutância estomática em *Populus* (BROCIOUS *et al.*, 2016). Interessantemente, em feijão-caupi, apenas foi encontrada plasticidade na arquitetura hidráulica do pecíolo, sendo que pouca diferença foi encontrada nas nervuras centrais em resposta ao déficit hídrico e nenhuma quando comparando os genótipos. Ao se comparar o número de vasos e diâmetro médio entre o pecíolo e as nervuras, percebe-se que o diâmetro dos vasos é determinado já no pecíolo ocorrendo apenas diminuição do número de vasos, já que o pecíolo divide sua rede condutora entre as três nervuras centrais presentes no folíolo. A única mudança consistentemente encontrada em resposta ao DH foi o aumento no D_h dos vasos do xilema no pecíolo de folhas em expansão. Esse aumento tenderia a aumentar a eficiência dos condutos, mas, em contrapartida, também aumenta a susceptibilidade ao embolismo quando aumentam as tensões no xilema devido a eventos de seca (HACKE *et al.*, 2016). Isto vai de encontro à teoria/evidência de que plantas sob déficit hídrico tendem a reduzir o diâmetro dos vasos para aumentar sua segurança. No entanto, em metanálise realizada por Dória (2018), foi encontrado que os diâmetros dos vasos não impactaram na resistência ao embolismo em herbáceas. Assim, especula-se que esse aumento no D_h dos vasos do xilema no pecíolo de folhas em expansão aconteça de modo a realmente aumentar sua eficiência, como forma de garantir um crescimento compensatório após eventos de seca, restando testar esta hipótese em futuros experimentos.

Sob estresse severo, o feijão-caupi exhibe grande capacidade de evitar desidratação mantendo potenciais hídricos menos negativos que outras espécies (ex. milho, sorgo e amendoim) em mesma condição de estresse (HALL, 2004), adotando comportamento tipicamente isohídrico. Este fato foi corroborado durante as avaliações, em que após 15 dias de estresse imposto de forma severa, o Ψ_w médio mais negativo alcançado foi de -1.31 MPa pelas plantas sob déficit hídrico, resultado semelhante ao Ψ_w alcançado rotineiramente ao meio dia pelas plantas controle (-1.15 MPa). Esta observação demonstra o quanto plantas de feijão-caupi operam com baixa margem de segurança hidráulica, já que plantas irrigadas permitem que tensões sejam desenvolvidas no xilema da mesma magnitude que aquelas causadas durante seca severa. Souza *et al.* (2004) avaliando feijão-caupi em condição de seca imposta mais lentamente, também não encontraram decréscimos marcantes no Ψ_w nos 11 dias de estresse, as

plantas estressadas chegaram a valor médio de -1,27 MPa enquanto os controles atingiram -0,71, e após reidratação retornaram ao Ψ_w semelhante ao controle, esses dados reforçam o comportamento isohídrico visto neste estudo.

Após reidratação, ambas cultivares recuperaram as taxas de trocas gasosas, inclusive as plantas da cultivar SI, que, quando submetidas a 15 dias de restrição hídrica, podem ter chegado a apresentar embolismo entre 10 e 30% (tendo por base os resultados encontrados nas curvas de vulnerabilidade) e recuperaram as trocas gasosas após reidratação alcançando valores semelhantes aos das plantas irrigadas. Isso evidencia alta capacidade de recuperação e que o estresse não afetou persistentemente a atividade fotossintética, o que pode estar relacionado à habilidade de proteção do aparato fotossintético contra danos fotooxidativos, como demonstrado com as reduções de F_v'/F_m' , relacionadas com maior proporção dos fótons absorvidos sendo dissipados como energia térmica ao invés de serem usados para conduzir a fotossíntese. Tal observação corrobora os resultados encontrados por Cardoso et al. (2018) que demonstraram quedas persistentes em F_v/F_m em folhas de girassol ocorrendo somente após completo embolismo foliar. Esta dissipação térmica do excesso de energia de excitação é um mecanismo de proteção, que mantém o alto estado oxidativo dos receptores primários de elétrons do PSII, prevenindo que ocorra danos fotooxidativos no aparato fotossintético (SHANGGUAN *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2004).

Os resultados aqui encontrados contrastam com o de Rivas *et al.* (2016) que não observaram total recuperação fotossintética na cultivar SI; no entanto, os mesmos autores encontraram que SI atingiu Ψ_w mais negativos que PO, o que também não foi observado neste estudo. Em adição, Bertolli *et al.* (2012) ao submeter plantas de soja e feijão-caupi à seca e avaliar a recuperação da taxa fotossintética dessas plantas, observaram que o feijão-caupi recuperou 65% em relação aos valores das plantas controle, enquanto a soja recuperou apenas 10%. Os autores atribuem essa diferença ao melhor controle estomático das plantas de feijão-caupi, fato corroborado aqui sendo que aos quatro dias de suspensão de irrigação, estas plantas apresentavam fechamento estomático quase completo. Sugere-se aqui que uma explicação para os diferentes níveis de recuperação apresentados em outros estudos seja a possibilidade de que as plantas tenham atingido o ponto de falha hidráulica, já que o feijão-caupi, mesmo sob condições irrigadas, assume estratégia arriscada, operando sob baixa margem de segurança hidráulica. Se eventos de embolismo se propagarem em maior intensidade, é esperado que a recuperação, caso ocorra, demande maior período. Alternativamente, uma recuperação mais tardia pode ser devido às mudanças em propriedades bioquímicas da Rubisco, como degradação

proteica. Nossas estimativas de V_{max} apontam que houve inativação da enzima sob déficit hídrico, o que é esperado devido ao fechamento estomático e baixo C_i (PARRY *et al.*, 2002). No entanto, contanto que só haja inativação, a recuperação da atividade é mais rápida do que se houvesse degradação proteica, o que exigiria maior tempo para a síntese *de novo* da enzima. Para a reativação, é necessário somente a degradação de inibidores e atividade suficiente da ativase da Rubisco.

Finalmente, ao buscar novas características hidráulicas que pudessem ser associadas à tolerância do feijão-caupi, foi observado que as plantas sob déficit hídrico mantêm seus pontos de crescimento viáveis, o que pode estar relacionado com a manutenção da integridade hidráulica do caule, haja visto que este órgão manteve TRA maior que as folhas, ou seja, operando sob margem de segurança menos estreita do que as folhas. Outra característica interessante, foi o aumento da suculência das plantas sob estresse. Este parâmetro é representado pelo conteúdo saturado de água (CSA), que, é uma alternativa métrica para avaliar a suculência e interpretado como forma de mensurar a água armazenada por grama de gasto de carbono no órgão analisado da planta (von WILLERT *et al.*, 1990).

As drásticas reduções observadas no conteúdo de matéria seca tanto das folhas como do caule, mas sem mudanças proporcionais no conteúdo de água, resultaram em aumento da suculência dos tecidos sobre seca. A suculência confere às plantas certo grau de independência em relação às limitações e imprevisibilidades do suprimento de água, conferindo capacidade de os tecidos armazenarem água e manter elevados potenciais hídricos, bem como, funções fisiológicas durante um período de seca (OGBURN e EDWARDS, 2012). O que também é corroborado com a manutenção dos Ψ_w durante a condução do experimento em casa de vegetação. Determinadas reduções na massa seca poderiam estar relacionadas à queima de compostos de reserva para manutenção do metabolismo sob estresse e/ou síntese de compostos com função osmótica relacionados com a manutenção do conteúdo de água e da função hidráulica, principalmente, no caule. Interessante é o fato, de que, mesmo com redução de mais de 50% da massa seca, as folhas mantiveram potencial fotossintético intacto, sugerindo que a maquinaria proteica do aparato fotossintético não foi alterada.

Plantas de *Lupinus alba*, por exemplo, desviam recursos de nitrogênio e carboidratos orgânicos do caule para as vagens ao primeiro sinal de déficit hídrico e chegam a uma produção de sementes semelhantes às plantas que não foram submetidas ao estresse hídrico (KOOYERS *et al.*, 2005) O armazenamento aprimorado de carboidratos pode ser benéfico para todas as plantas que frequentemente sofrem déficit hídrico, se essas reservas de curto prazo são usadas

para manter a homeostase ou suportar um nível reduzido de metabolismo em trechos mais longos.

6. CONCLUSÃO

Apesar de serem caracterizadas como as cultivares mais contrastantes em relação a tolerância à seca, PO e SI não apresentam diferenças na vulnerabilidade hidráulica foliar e na resposta de trocas gasosas em relação as condições hídricas impostas. Interessantemente, foi observado que as plantas sob déficit hídrico apresentam maior suculência devido às reduções na massa seca de caules e folhas, porém sem apresentar reduções no conteúdo de água ou no potencial fotossintético. A sustentação de melhor status hídrico no caule aponta que a vulnerabilidade hidráulica de caules e/ou raízes pode ser mais importante que a foliar na manutenção dos pontos de crescimento e sobrevivência sob seca. Futuros experimentos impondo seca mais severa, até atingir potenciais hídricos relacionados ao P_{50} e P_{88} , são necessários para avaliar se a capacidade de recuperação é mantida em ambas cultivares, além disso, torna-se necessário compreender qual as alterações na composição bioquímica governam as mudanças na massa seca de folhas e caule e até que ponto o aumento da suculência é positivo para o crescimento e desenvolvimento da planta.

REFERÊNCIAS

- Agbicodo EM, Fatokun CA, Muranaka S, Visser RGF** (2009) Breeding drought tolerant cowpea: constraints, accomplishments, and future prospects. *Euphytica* **167**: 353-370
- Ahmad HB, Lens F, Capdeville G, Burlett R, Lamarque LJ, Delzon S** (2018) Intraspecific variation in embolism resistance and stem anatomy across four sunflower (*Helianthus annuus* L.) accessions. *Physiol Plantarum*, **163**: 59-72
- Araus JL, Slafer GA, Royo C, Serret MD** (2008) Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *Crit Rev Plant Sci* **27**: 377–412
- Bertolli SC, Rapchan GL, Souza GM** (2012) Photosynthetic limitations caused by different rates of water-deficit induction in *Glycine max* and *Vigna unguiculata*. *Photosynthetica*, **50**, 329-336
- Blum A** (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *F Crop Res* **112**: 119–123
- Brocius CA, Hacke UG** (2016) Stomatal conductance scales with petiole xylem traits in *Populus* genotypes. *Funct Plant Biol* **43**: 553-562
- Brodribb TJ, Holloway-Phillips MM and Bramley H** (2015) ‘Improving water transport for carbon gain in crops’, in Calderini, D. and Sadras, V. (eds.) *Crop physiology: Applications for genetic improvement and Agronomy*. United States: Academic Press, pp. 251–281
- Brodribb TJ, Jordan GJ** (2011) Water supply and demand remain balanced during leaf acclimation of *Nothofagus cunninghamii* trees. *New Phytol* **192**: 437–448
- Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SA, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P** (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytol*, **209**: 1403-1409
- Cardoso AA, Brodribb TJ, Lucani CJ, DaMatta FM, McAdam SA** (2018). Coordinated plasticity maintains hydraulic safety in sunflower leaves. *Plant Cell Environ* **41**: 2567-2576
- Charrier G, Torres-Ruiz JM, Badel E, Burlett R, Choat B, Cochard H, Delmas CEL, Domec JC, Jansen S, King A, Lenoir N, Martin-StPaul N, Gambetta GA, Delzon S** (2016) Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiol* **172**: 1657-1668
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS** (2003) Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Funct Plant Biol* **30**: 239–264

- Choat B, Badel E, Burrell R, Delzon S, Cochard H, Jansen S** (2015) Noninvasive measurement of vulnerability to drought induced embolism by X-ray microtomography. *Plant Physiol* **170**: 273-264
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S** (2013) Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *J Exp Bot* **64**: 4779-4791
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento** (2019) Acompanhamento da safra brasileira: grãos, safra2018/2019. Brasília: CONAB 43 pp.
- Delzon S, Cochard H** (2014) Recent advances in tree hydraulics highlight the ecological significance of the hydraulic safety margin. *New Phytol* **203**: 355–358
- Dória LC, Meijs C, Podadera DS, Del Arco M, Smets E, Delzon S, Lens F** (2018) Embolism resistance in stems of herbaceous Brassicaceae and Asteraceae is linked to differences in woodiness and precipitation. *Ann Bot* **20**: 1-13
- Ehlers JD, Hall AE** (1997). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crops Res* **53**: 187-204
- Fang Y, Xiong L** (2015) General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell Mol Life Sci* **72**: 673–689
- Freire Filho FR** (2011) Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa Meio-Norte 84 pp.
- Frota KDMG, Soares RAM, Arêas JAG** (2008) Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciênc Tecnol Aliment* **28**: 470-476
- Genty B, Briantais JM, Baker NR** (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* **990**: 87-92
- Hacke UG, Spicer R, Schreiber SG, Plavcová L** (2017) An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant Cell Environ* **40**: 831-845
- Hall AE** (2004) Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea. *Euro J Agron* **21**: 447-454.
- Hochberg U, Degu A, Gendler T, Fait A, Rachmilevitch S** (2015) The variability in the xylem architecture of grapevine petiole and its contribution to hydraulic differences. *Func Plant Biol*, **42**: 357-365
- IPCC** (2014) Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report

of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: Field CB, Barros VR, Dokken DJ, Mach KJ, Mastrandrea MD, Bilir TE, Chatterjee M, Ebi KL, Estrada YO, Genova RC, Girma B, Kissel ES, Levy AN, MacCracken S, Mastrandrea PR, White LL, eds. Cambridge, UK and New York, NY, USA: Cambridge University Press

Johansen DA (1940) Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill 523 pp.

John GP, Henry C, Sack L (2018) Leaf rehydration capacity: Associations with other indices of drought tolerance and environment. *Plant Cell Environ* **41**: 2638-2653

Johnson KM, Jordan GJ, Brodribb TJ (2018). Wheat leaves embolized by water stress do not recover function upon rewatering. *Plant Cell Environ* **41**: 2704-2714

Kooyers NJ (2015) The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. *Plant Sci* **234**: 155-162.

Lachenbruch B, McCulloh KA (2014) Traits, properties, and performance: how woody plants combine hydraulic and mechanical functions in a cell, tissue, or whole plant. *New Phytol* **204**: 747–764

Lens F, Picon-Cochard C, Delmas CE, Signarbieux C, Buttler A, Cochard H, Jansen S, Chauvin T, Doria LC, del Arco M, Delzon S (2016) Herbaceous angiosperms are not more vulnerable to drought-induced embolism than angiosperm trees. *Plant Physiol* **172**: 661-667

Li Y, Sperry JS, Shao M (2009) Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. *Environ Exper Bot* **66**: 341-346

Manzoni S, Katul G, Porporato A (2014) A dynamical system perspective on plant hydraulic failure. *Water Resour Res* **50**: 5170–5183

Martínez-Vilalta J, Poyatos R, Aguadé D, Retana J, Mencuccini M (2014) A new look at water transport regulation in plants. *New Phytol* **204**: 105-115

Martins SCV, Galmés JG, Molins A, DaMatta FM (2013) Improving the estimation of mesophyll conductance: on the role of electron transport rate correction and respiration. *J Exp Bot* **64**: 3285–3298

Matzner SL, Rettedal DD, Harmon DA, Beukelman MR (2014) Constraints to hydraulic acclimation under reduced light in two contrasting *Phaseolus vulgaris* cultivars. *J Exp Bot* **65**: 4409–4418

Muchero W, Ehlers JD, Roberts PA (2008) Seedling stage drought-induced phenotypes and drought-responsive genes in diverse cowpea genotypes. *Crop Sci* **48**: 541-552

- Nascimento SPD, Bastos EA, Araújo EC, Freire Filho FR, SILVA EMD** (2011) Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. *Rev Bras Eng Agríc* **15**: 853-860
- O'brien TP, Feder N, McCully ME** (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **59**: 368-373
- Ogburn RM, Edwards EJ** (2012) Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. *Plant Cell Environ* **35**: 1533-1542
- Parry MA, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ** (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. *Ann Bot* **89**: 833-839
- Rivas R, Falcão HM, Ribeiro RV, Machado EC, Pimentel C, Santos MG** (2016) Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. *S Afr J Bot* **103**: 101-107
- Rodriguez-Dominguez CM, Carins Murphy MR, Lucani C, Brodribb TJ** (2018) Mapping xylem failure in disparate organs of whole plants reveals extreme resistance in olive roots. *New Phytol* **218**: 1025-1035
- Shangguan Z, Shao M, & Dyckmans J** (2000) Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. *J Plant Physiol*, **156**: 46-51
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2007) Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot* **58**: 221–227
- Sinclair TR** (2012) Is transpiration efficiency a viable plant trait in breeding for crop improvement? *Funct Plant Biol* **39**: 359–365
- Singh BB, Ajeigbe HA, Tarawali SA, Fernandez-Rivera S, Abubakar M** (2003) Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. *Field Crops Res* **84**: 169-177
- Skelton RP, Brodribb TJ, & Choat B** (2017) Casting light on xylem vulnerability in an herbaceous species reveals a lack of segmentation. *New Phytol* **214**: 561-569
- Souza RP, Machado EC, Silva JAB, Lagôa AMMA, Silveira JAG** (2004) Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environ Exp Bot* **51**: 45-56
- Stiller V, Lafitte HR, Sperry JS** (2003) Hydraulic properties of rice and the response of gas exchange to water stress. *Plant Physiol* **132**: 1698–1706

- Todaka D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2015) Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. *Front Plant Sci* **6**: 84-93
- Trueba S, Pouteau R, Lens F, Feild TS, Isnard S, Olson ME, Delzon S** (2017) Vulnerability to xylem embolism as a major correlate of the environmental distribution of rain forest species on a tropical island. *Plant Cell Environ* **40**: 277-289
- Vadez V, Kholova J, Medina S, Kakkera A, Anderberg H** (2014) Transpiration efficiency: new insights into an old story. *J Exp Bot* **65**: 6141–6153
- von Willert DJ, Eller BM, Werger MJA, Brinckmann E** (1990) Desert succulents and their life strategies. *Vegetatio* **90**: 133-143
- Yu L, Chen X, Wang Z, Wang S, Wang Y, Zhu Q, Li S, Xiang C** (2013) Arabidopsis enhanced drought tolerance1/HOMEODOMAIN GLABROUS11 confers drought tolerance in transgenic rice without yield penalty. *Plant Physiol* **162**: 1378–1391
- Zsögön A, Negrini ACA, Peres LEP, Nguyen HT, Ball MC** (2015) A mutation that eliminates bundle sheath extensions reduces leaf hydraulic conductance, stomatal conductance and assimilation rates in tomato (*Solanum lycopersicum*). *New Phytol* **205**: 618-626

APÊNDICE A – Dados suplementares

Tabela S1. Dados da curva de vulnerabilidade. Resultados de P_{50} (perda de 50% da condutividade hidráulica), P_{88} (perda de 88% da condutividade hidráulica), Queda 50% g_s e Queda 80% g_s de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível).

	Pingo de Ouro 1-2		Santo Inácio		Teste t
P_{50}					
Tempo	47.70	± 4.008	32.80	± 4.980	0.06
Ψ_w	-1.81	± 0.127	-1.50	± 0.113	0.11
P_{88}					
Tempo	53.450	± 2.476	38.14	± 5.280	0.05
Ψ_w	-1.86	± 0.118	-1.56	± 0.102	0.09
Queda 50% g_s					
Tempo	4.37	± 0.726	2.75	± 0.280	0.14
Ψ_w	-0.65	± 0.059	-0.71	± 0.036	0.48
Queda 80% g_s					
Tempo	7.06	± 0.484	5.12	± 0.465	0.94
Ψ_w	-0.74	± 0.050	-0.79	± 0.033	0.55

Figura S1. Taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa de transporte de elétrons (ETR), velocidade de carboxilação máxima ($V_{c,max}$), eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m'), respiração noturna (R_d) em função dos dias após início do déficit hídrico em folhas expandidas e folhas em expansão de duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). Média \pm EP ($n = 4-7$).

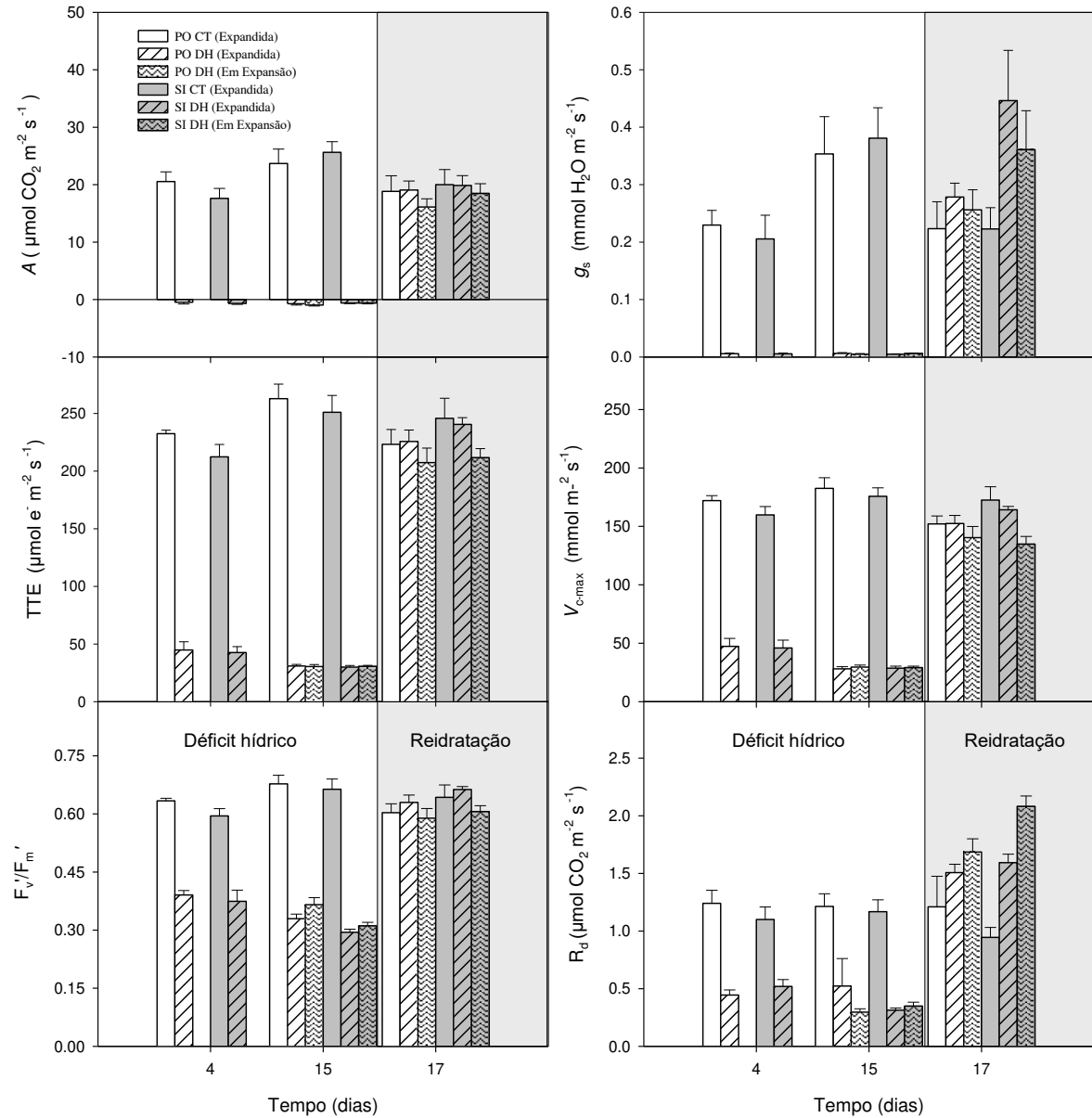


Figura S2. Área foliar, massa seca (MS) e área foliar específica (AFE) em duas cultivares de feijão-caupi (Pingo de Ouro 1-2 – tolerante; Santo Inácio – sensível). Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Pingo de Ouro 1-2 controle (PO CT), Pingo de Ouro 1-2 sob déficit hídrico (PO DH), Santo Inácio controle (SI CT) e Santo Inácio sob déficit hídrico (SI DH). Média \pm EP (n = 4-7).

