

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Arroz e Feijão
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 44

Deficiência Hídrica Induzida por PEG-6000 em Plântulas de Feijoeiro Comum

Suzy Taeko Mitsuzono
Anna Cristina Lanna
Milene Alves de Figueiredo Carvalho

Embrapa Arroz e Feijão
Santo Antônio de Goiás, GO
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Arroz e Feijão

Rod. GO 462, Km 12, Zona Rural
Caixa Postal 179
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO
Fone: (62) 3533-2238
Fax: (62) 3533-2100
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Lineu Alberto Domiti*
Secretário-executivo: *Pedro Marques da Silveira*
Membros: *Aluísio Goulart Silva, Ana Lúcia Delalibera de Faria, Élcio Perpétuo Guimarães, Luciene Fróes Camarano de Oliveira, Luis Fernando Stone, Márcia Gonzaga de Castro Oliveira, Orlando Peixoto de Moraes, Roselene de Queiroz Chaves*

Supervisão editorial: *Luiz Roberto Rocha da Silva*
Revisão de texto: *Rodrigo Peixoto de Barros*
Normalização bibliográfica: *Ana Lúcia D. de Faria*
Edição eletrônica: *Fabiano Severino*

1ª edição

On-line (2016)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Arroz e Feijão

Mitsuzono, Suzy Taeko.

Deficiência hídrica induzida por PEG-6000 em plântulas de feijoeiro comum / Suzy Taeko Mitsuzono, Anna Cristina Lanna, Milene Alves de Figueiredo Carvalho. - Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2016.

22 p. - (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9601 ; 44)

1. Feijão – Resistência à seca. 2. Feijão - Seleção genótipa. 3. Variação genética. I. Lanna, Anna Cristina. II. Carvalho, Milene Alves de Figueiredo. III. Título. IV. Embrapa Arroz e Feijão. V. Série.

CDD 635.652 (21. ed.)

© Embrapa 2016

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	8
Resultados e Discussão.....	10
Conclusões.....	17
Referências	18

Deficiência hídrica induzida por PEG-6000 em plântulas de feijoeiro comum

Suzy Taeko Mitsuzono¹

Anna Cristina Lanna²

Milene Alves de Figueiredo Carvalho³

Resumo

Deficiência hídrica ocasiona alterações morfofisiológicas em plantas como mecanismos de sobrevivência e/ou adaptação ao ambiente. Objetivou-se padronizar metodologia de seleção de genótipos de feijoeiro comum, em fase inicial de desenvolvimento, para tolerância à deficiência hídrica, sob condicionamento osmótico induzido por polietileno glicol-6000 (PEG-6000). Para isso, foram cultivados genótipos de feijoeiro comum, BAT 477, Pérola e Olathe Pinto, com características contrastantes para tolerância à deficiência hídrica, em meio contendo PEG-6000 nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 kg m⁻³. Para indução do estresse, plântulas com o primeiro par de folhas simples completamente expandido (estádio V2) foram expostas à substância PEG-6000 e, ao sexto dia após aplicação, foram submetidas à avaliação dos atributos morfológicos e fisiológicos. Os resultados obtidos mostraram que a concentração de 40 kg m⁻³ de PEG-6000 simulou a deficiência hídrica e que os atributos morfofisiológicos relativos à área foliar, às taxas fotossintéticas e transpiratórias foram os que mais contribuíram para indicar características de tolerância à deficiência hídrica em plântulas de feijoeiro comum. A técnica de seleção de genótipos de feijoeiro comum mais tolerantes à deficiência hídrica induzida por PEG-6000 é viável e pode contribuir com o programa de melhoramento genético desta espécie.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., tolerância à deficiência hídrica, variabilidade genética, condições controladas de crescimento.

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

² Química, doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Café, Brasília, DF.

Water Deficit Induced by PEG-6000 in Common Bean Seedlings

Abstract

This study aimed to standardize selection methodology of common bean genotypes, in early development, to tolerance to water deficit, under osmotic conditioning induced by polyethylene glycol-6000 (PEG-6000). Thereunto, the common bean genotypes BAT 477, Pérola and Olathe Pinto, which have contrasting characteristics for water deficit tolerance, were cultivated in a medium content 20, 40, 60, 80 and 100 kg m⁻³ of PEG-6000. For stress induction, seedlings with the first pair of fully expanded leaves (V2 stage) received, in the growth medium, PEG-6000 solutions and, on the sixth day after application, it was evaluated their morphological and physiological attributes. The results showed that the concentration of 40 kg m⁻³ of PEG-6000 simulated the water deficit and the morpho-physiological attributes leaf area, photosynthetic and transpiration rates were the main contributors to indicate characteristics of drought tolerance in common bean seedlings. The initial screening technique for selecting common bean genotypes more tolerant to water deficit is viable and can contribute to the breeding program of this species.

Index terms: Phaseolus vulgaris L., drought tolerance mechanism, genetic variability, controlled growth conditions.

Introdução

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é o legume mais popular das Américas e da África Oriental e Meridional (ASFAW; BLAIR, 2012). É uma leguminosa que apresenta alto teor proteico (~ 22%) e nutrientes essenciais como vitaminas (folato) e minerais (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn) para dieta humana, especialmente para a população dos países em desenvolvimento (BEEBE, 2012).

Contudo, um dos mais relevantes problemas dessa espécie é o fato de que 60% da produção ocorre em solos agrícolas propensos à deficiência hídrica, sem sistemas de irrigação, onde períodos de estiagem resultam em perdas que podem chegar a mais de 80% de redução de produtividade (ROSALES et al., 2012). A ocorrência desses ciclos naturais de deficiência hídrica (veranicos de uma, duas ou até três semanas) pode ser ainda mais limitante, dependendo da intensidade e da duração do estresse (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998), além da fase de desenvolvimento da planta em que ocorre (SOUSA; LIMA, 2010).

O estresse relacionado à deficiência hídrica é expresso por uma série de mudanças morfofisiológicas, anatômicas, bioquímicas e moleculares nas plantas, que afetam negativamente seu crescimento e produtividade (OMAE et al., 2012; SOUSA; LIMA, 2012). Dentre os principais processos que ocorrem em plantas submetidas à deficiência hídrica, citam-se, inibição ou redução do crescimento ocasionado pela redução/inibição da expansão celular; decréscimo no potencial hídrico foliar; redução da taxa fotossintética; formação de espécies reativas de oxigênio (EROs); acúmulo de ácido abscísico (ABA) para sinalizar fechamento estomático e, conseqüentemente, reduzir a transpiração; produção de osmoprotetores como prolina, manitol e sorbitol; síntese de novas proteínas em RNAs (KHAN; HAKEEM, 2014).

Em função da posição de destaque que ocupa na economia brasileira, bem como dos impactos que ocorrerão com as mudanças climáticas, um dos principais objetivos dos programas de melhoramento genético do feijoeiro comum é introduzir em novas cultivares características de interesse

agronômico, tal como tolerância a estresses abióticos (McCLEAN et al., 2011). No entanto, a característica de tolerância à deficiência hídrica apresenta, por natureza, uma complexidade fisiológica, já que recebe grande efeito do ambiente (CORTÉS et al., 2013). A resposta da planta à deficiência hídrica, em condições de campo ou de casa de vegetação, pode estar condicionada à presença de outros tipos de estresse, como fertilidade inadequada do solo, intensidade luminosa e temperatura ou compactação do solo, fator este que induz a redução no crescimento das raízes e, conseqüentemente, limita o potencial da planta em expressar tolerância à seca (MIKLAS et al., 2006).

Assim, é estratégico realizar experimentos de plantas sob deficiência hídrica em ambientes controlados para que haja minimização de cruzamento de estresses. O uso de polietilenoglicol-6000 (PEG-6000) foi indicado por Bradford (1986) para estudos de simulação de deficiência hídrica, pois o mesmo é considerado inerte, não penetra no apoplasto da raiz por causa do seu alto peso molecular e, com isso, não causa toxicidade em plântulas (CARPITA et al., 1979). Sua eficácia na simulação da deficiência hídrica vem sendo comprovada por meio de estudos nas mais diversas espécies vegetais como feijão (MORAES et al., 2005; TÜRKAN et al., 2005; YANG et al., 2012), pinhão manso (PEREIRA; LOPES, 2011), soja (MORAES; MENEZES, 2003), *Medicago truncatula* (SONG et al., 2012), amendoim (LAURIANO et al., 2000) e feijão-caupi (MURILLO-AMADOR et al., 2002). Dentro desse foco, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de padronizar metodologia de seleção de genótipos de feijoeiro comum, em fase inicial de desenvolvimento, para tolerância à deficiência hídrica em condições controladas, estabelecendo o nível ótimo de estresse osmótico, causado por PEG-6000 (MICHEL; KAUFMANN, 1973), bem como identificando respostas morfofisiológicas indicadoras de tolerância.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão, no Município de Santo Antônio de Goiás, GO. Foram utilizados três genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*

L.): BAT 477, Pérola e Olathe Pinto, integrantes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Arroz e Feijão. Esses genótipos diferem quanto à tolerância à deficiência hídrica. A linhagem BAT 477, desenvolvida no CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), possui tolerância a múltiplos estresses, incluindo tolerância à seca e baixo fósforo no solo (SVETLEVA et al., 2012); o genótipo Pérola é uma cultivar proveniente do programa de melhoramento genético do feijoeiro comum da Embrapa Arroz e Feijão, que apresenta alta produtividade e aceitabilidade (YOKOYAMA et al., 1999); e o genótipo Olathe Pinto é uma variedade desenvolvida e lançada pela Colorado State University Experiment Station (EUA), em 1979 (WOOD; KEENAN, 1982), muito utilizada em experimentos de transgenia de feijoeiro comum (PINHEIRO et al., 2009). Tanto Pérola quanto Olathe Pinto são considerados sensíveis à deficiência hídrica (BEEBE et al., 2008).

As sementes foram desinfestadas por imersão em etanol 70% (v/v) por 60 segundos e em solução 2,5% de hipoclorito de sódio (NaOCl) por 10 a 15 minutos e lavadas oito vezes em água destilada autoclavada. Em seguida à desinfestação, as sementes foram mantidas em água destilada autoclavada por um período de 24h para fins de embebição. Após esse período, três sementes foram colocadas para germinar em caixa tipo Magenta® (7 x 7 x 12 cm) contendo 30 g de vermiculita. Após três a quatro dias da emergência do hipocótilo, fez-se o desbaste para que cada caixa contivesse apenas uma plântula. Até o desbaste, as plântulas foram irrigadas com água para manter condições hídricas ideais. Após o desbaste, as plântulas foram irrigadas, alternadamente, com água e solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), com reposição de, aproximadamente, 10 mL diariamente. As caixas contendo as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de $90 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, temperatura de $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16h e umidade relativa do ar de 60% a 70%.

Plântulas com 18 dias de idade, com o primeiro par de folhas simples completamente expandido (estádio V2) (FERNÁNDEZ et al., 1986), receberam soluções contendo diferentes concentrações do polímero polietilenoglicol (PEG-6000). Foram testadas cinco concentrações de

PEG-6000: 20, 40, 60, 80 e 100 kg m⁻³, as quais equivalem a níveis de potencial osmótico (ψ_s) de -0,014; -0,036; -0,066; -0,103 e -0,148 MPa, respectivamente (MICHEL; KAUFMANN, 1973). Plântulas controle e plântulas estressadas (tratadas com PEG-6000) continuaram a ser irrigadas, diariamente, durante seis dias.

No último dia do estresse (sexto dia após a aplicação de PEG-6000), foram avaliados os atributos morfológicos: área foliar (cm²), determinada por meio do medidor de área foliar LI-COR, modelo 3.100; biomassa da matéria seca (g) da parte aérea (BMSPA) e da raiz (BMSR), determinada após a secagem das amostras a 65 °C em estufa com ventilação forçada até a obtenção de massa constante, aferida em balança semianalítica; e a razão BMSR/BMSPA. Quanto aos atributos fisiológicos, foram avaliados: taxas fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (A) e transpiratória ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (E), determinadas por meio do medidor portátil de gás na região do infravermelho (LCpro+, ADC BioScientific); e a eficiência do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) (EUA), expressa como a razão entre a taxa fotossintética e a taxa transpiratória (PINZÓN-TORRES; SCHIAVINATO, 2008).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo 3 x 5 (genótipos e concentração de PEG-6000), com 12 repetições por tratamento, cada uma composta por uma caixa tipo Magenta contendo uma plântula. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011) e adotando-se o nível de 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os genótipos de feijoeiro comum (BAT 477, Pérola e Olathe Pinto), em fase inicial de desenvolvimento, apresentaram respostas distintas em relação aos diferentes níveis de deficiência hídrica decorrentes das cinco concentrações de PEG-6000 utilizadas, confirmando estudos realizados por Ghanbari et al. (2013) e Rosales et al. (2013). Isso significa que a variabilidade genética dentro da espécie

P. vulgaris e a fase de desenvolvimento das plantas oferecem ferramentas valiosas para estudo dos mecanismos de tolerância a esse tipo de estresse.

Área foliar (AF) e biomassa da matéria seca da parte aérea (BMSPA) de plântulas dos três genótipos de feijoeiro comum foram reduzidas significativamente quando crescidas em meio contendo PEG-6000 (Figuras 1A e 1B). Em todas as concentrações de PEG-6000 a AF de plântulas dos três genótipos foi reduzida, enquanto somente as plântulas de BAT 477 e de Olathe Pinto reduziram a BMSPA em todas as concentrações testadas. Plântulas de Pérola reduziram a BMSPA significativamente somente a partir do meio de crescimento contendo 60 kg m^{-3} de PEG-6000 ($\psi_s = -0,066 \text{ MPa}$). Na concentração de 20 kg m^{-3} de PEG-6000 ($\psi_s = -0,014 \text{ MPa}$), a redução da AF foi de 24% ($107,84 \text{ cm}^2$), 33% ($105,53 \text{ cm}^2$) e 39% ($73,85 \text{ cm}^2$) para os genótipos Pérola ($141,33 \text{ cm}^2$), BAT 477 ($158,52 \text{ cm}^2$) e Olathe Pinto ($120,26 \text{ cm}^2$), quando comparadas às plântulas crescidas em meio de crescimento sem PEG-6000 (tratamento controle) (Figura 1A).

No meio contendo 20 kg m^{-3} de PEG-6000, a redução de BMSPA para o genótipo Pérola foi de apenas 8%, enquanto plântulas de BAT 477 e Olathe Pinto tinham reduzido 25% e 28% de sua BMSPA, respectivamente, quando comparados aos tratamentos controle. No tratamento 60 kg m^{-3} de PEG-6000 os três genótipos, Pérola, BAT 477 e Olathe Pinto já apresentaram redução acima de 45% em sua BMSPA (Figura 1B).

Neste estudo, o perfil de redução da AF e da BMSPA foi semelhante entre os genótipos de feijoeiro comum avaliados, no entanto a redução mais pronunciada foi observada em plântulas de Olathe Pinto. De acordo com Tardieu (2013), a redução de área foliar é uma estratégia utilizada pelas plantas crescidas em condições de deficiência hídrica para minimizar a área transpiratória disponível. Por outro lado, reduz a área fotossintética com reflexo direto na quantidade de biomassa produzida.

A biomassa da matéria seca de raiz (BMSR) também apresentou redução significativa em plântulas crescidas sob deficiência hídrica (Figura 1C). Plântulas de BAT 477 começaram a apresentar alterações na quantidade de raiz a partir da adição de 40 kg m⁻³ de PEG-6000 (0,132 g); enquanto plântulas de Pérola e de Olathe Pinto, a partir da adição de 60 kg m⁻³ de PEG-6000 (0,107 e 0,180 g, respectivamente), em comparação àquelas cultivadas sob condições hídricas ótimas (0,226, 0,182 e 0,246 g, respectivamente).

É sabido que plantas mais tolerantes à deficiência hídrica possuem como pré-requisito, em períodos marcantes, a manutenção do crescimento radicular para absorção de água nas camadas mais profundas (SOUSA; LIMA, 2010). Entretanto, neste estudo nenhum dos três genótipos apresentou aumento na quantidade de raiz em plântulas crescidas em meio contendo PEG-6000 (Figura 1C). A falta de diferenciação de resposta do sistema radicular em função dos níveis de deficiência hídrica, entre os genótipos avaliados, se deve, provavelmente, às limitações das condições do experimento (duração do período de deficiência hídrica e caixa tipo Magenta® como recipiente para crescimento).

Independentemente, foi possível observar que plântulas de BAT 477 apresentaram redução de BMSR significativamente diferente do tratamento controle, em meio com menor concentração de PEG-6000 (40 kg m⁻³), enquanto que para os genótipos Pérola e Olathe Pinto, foi observada redução significativa dessa variável em meio contendo 60 kg m⁻³ de PEG-6000. Sistema radicular mais robusto, em termos de BMSR, foi apresentado pelas plântulas de Olathe Pinto, seguido de plântulas de BAT 477 e de Pérola, respectivamente.

Embora dados de BMSR demonstrem uma tendência similar nas plântulas dos três genótipos avaliados, grandes diferenças foram detectadas na razão BMSR/BMSPA (Figura 1D). Foi observado um aumento dessa razão em função da concentração crescente de PEG-6000 no meio de crescimento, de 28% (0,676), 26% (0,504) e 14% (0,374) para as plântulas de Olathe Pinto crescidas no meio contendo

20 kg m⁻³; BAT 477 crescida no meio contendo 40 kg m⁻³ de PEG-6000 e Pérola crescida no meio contendo 60 kg m⁻³ de PEG-6000, respectivamente, comparadas às do tratamento controle (0,530; 0,399; 0,329, respectivamente). O aumento da razão em plântulas de Pérola, no meio de crescimento contendo 20 kg m⁻³ de PEG-6000, foi de 2% (0,335), seguido de um aumento de 5% (0,346) na concentração de 40 kg m⁻³ de PEG-6000, em relação ao controle (0,329). Enquanto o aumento da razão em plântulas de BAT 477, no meio de crescimento contendo 20 kg m⁻³ de PEG-6000, foi de 17% (0,465) em relação ao controle (0,399). O aumento da razão BMSR/BMSPA pode ser explicado pela redução mais significativa da BMSPA do que da BMSR.

Dos atributos morfológicos avaliados, independente do genótipo e da concentração de PEG-6000, observou-se que a parte aérea percebeu e ativou respostas fisiológicas, antecipadamente às respostas dadas pelo sistema radicular (BMSR), uma vez que foi necessário um nível mais elevado de estresse osmótico no meio de crescimento para ocorrer redução da BMSR. Por isso, padrão de enraizamento, apesar de ser um importante mecanismo de tolerância em plantas de feijão (SOUSA; LIMA, 2010), não é o único mecanismo a ser considerado para indicar maior tolerância. Em adição, observou-se que plântulas de Olathe Pinto e Pérola, em todas as concentrações de PEG-6000 testadas, reduziram, em menor intensidade, a AF e BMSPA comparativamente ao BAT 477, sugerindo que plântulas desses genótipos percebem mais tardiamente a falta de água no meio de crescimento.

Para medidas de trocas gasosas nas plântulas submetidas à deficiência hídrica em diferentes concentrações de PEG-6000, foi possível a obtenção de dados até a concentração de 60 kg m⁻³ de PEG-6000 ($\psi_s = -0,066$ MPa) para os genótipos Pérola e BAT 477; e até a concentração de 40 kg m⁻³ de PEG-6000 ($\psi_s = -0,036$ MPa) para o genótipo Olathe Pinto (Tabela 1). Este fato se deve ao murchamento e/ou abscisão foliar ocorridos nos três genótipos avaliados em concentrações de PEG-6000 acima das relatadas acima.

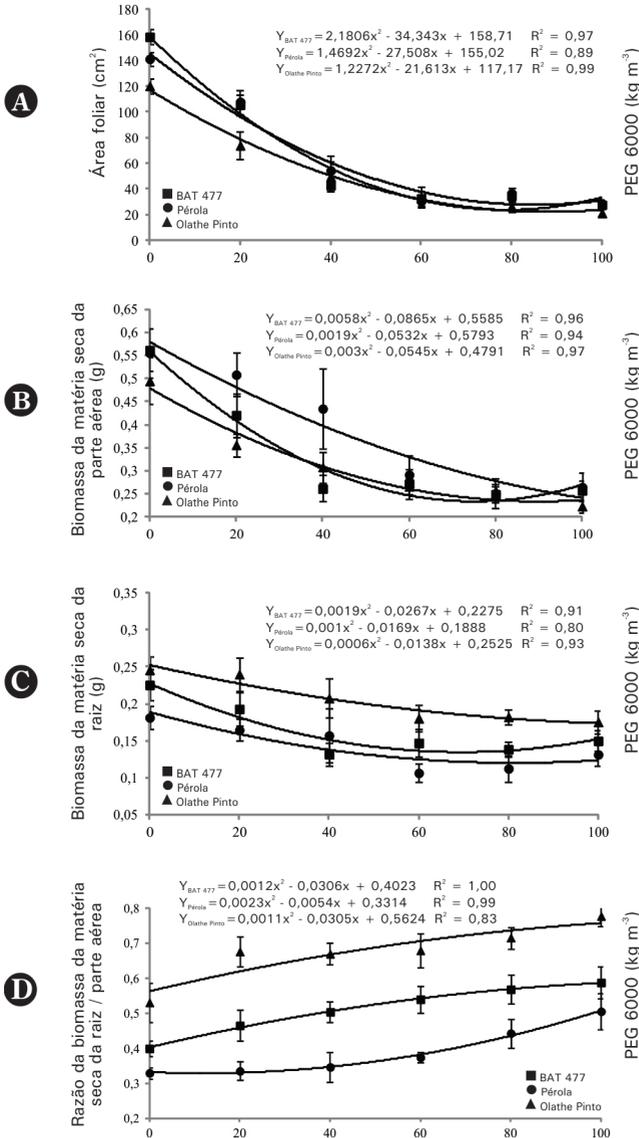


Figura 1. Atributos morfológicos: área foliar (A), biomassa da matéria seca da parte aérea (B), biomassa da matéria seca da raiz (C) e razão da biomassa da matéria seca da raiz/parte aérea (D) de plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). BAT 477, Pérola e Olathe Pinto, crescidas em meio contendo diferentes concentrações de PEG-6000: 20, 40, 60, 80 e 100 kg m⁻³, equivalentes aos potenciais osmóticos (ψ_s) de -0,014; -0,036; -0,066; -0,103 e -0,148 MPa, usados para simulação de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tabela 1. Parâmetros fisiológicos: taxa fotossintética líquida (A), taxa transpiratória (E) e eficiência do uso da água (EUA) em genótipos de feijoeiro comum, BAT 477, Pérola e Olathe Pinto, crescidos em meio contendo diferentes concentrações de PEG-6000: 20, 40, 60, 80 e 100 kg m⁻³, equivalentes aos potenciais osmóticos (ψ_s) de -0,014, -0,036, -0,066, -0,103 e -0,148 MPa, usados para simulação de diferentes níveis de deficiência hídrica.

PEG-6000 (kg m ⁻³)	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			EUA ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$)		
	BAT477	Pérola	Olathe	BAT477	Pérola	Olathe	BAT477	Pérola	Olathe
0	7,6 aA	8,9 aA	6,8 aA	3,9 bA	5,3 aA	4,0 bA	1,9 aA	1,7 aA	1,7 aA
20	2,0 bB	5,1 aB	2,2 bB	1,2 bB	2,4 aB	1,8 bB	1,5 bA	2,1 aA	0,9 cB
40	1,5 aB	4,0 aB	0,9 aB	0,7 aB	2,0 aB	1,1 aB	2,1 aA	1,9 aA	0,8 bB
60	2,0 aB	0,5 aC	**	1,1 aB	1,0 aC	**	1,6 aA	0,5 bB	**

Médias seguidas por mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. **Medidas, no último dia da deficiência hídrica, não realizadas em função da impossibilidade em acoplar as folhas ao equipamento, devido ao murchamento e/ou abscisão foliar ocorridos no genótipo Olathe Pinto na concentração de PEG-6000 de 60 kg m⁻³.

Taxas fotossintética (A) e transpiratória (E) de plântulas de feijoeiro comum foram significativamente reduzidas em função do aumento do estresse osmótico no meio de crescimento, comparadas às de plântulas do tratamento controle (Tabela 1). A redução da taxa fotossintética e transpiratória foi de 43% e 55% para plântulas de Pérola; 68% e 55% para plântulas de Olathe Pinto; 74% e 69% para plântulas de BAT 477, respectivamente, crescidas em meio contendo 20 kg m⁻³ de PEG-6000. Estudo conduzido por Rosales et al. (2012) mostrou que a redução da taxa fotossintética de uma cultivar de feijoeiro comum, Bayo Madero, sensível à deficiência hídrica quando submetido à baixa disponibilidade hídrica no período de floração, foi maior comparativamente à apresentada pela cultivar tolerante, Pinto Saltillo. Contrariamente, nesse estudo, plântulas de Pérola, genótipo considerado sensível à deficiência hídrica, apresentaram menor redução de taxas fotossintética (A) e transpiratória (E) comparativamente ao genótipo BAT 477, considerado tolerante à deficiência hídrica (Tabela 1). Esse resultado pode ser devido às diferentes fases do desenvolvimento das plantas quando as mesmas foram submetidas à deficiência hídrica, bem como à severidade da deficiência hídrica simulada por PEG-6000.

O declínio de A, em maior ou menor intensidade, observado nas plântulas dos genótipos avaliados, é assumido ser o responsável pelo decréscimo

na AF e BMSPA. Esses resultados mostraram, novamente, que os genótipos Olathe Pinto e Pérola perceberam tardiamente a redução da disponibilidade hídrica no meio de crescimento e, por isso, mantiveram a fotossíntese e a transpiração similar às de plântulas do tratamento controle. A alta taxa transpiratória em plântulas de Olathe Pinto e Pérola, comparada à de plântulas de BAT 477, pode ter dado origem à diferença na sensibilidade à deficiência hídrica.

Com relação à eficiência do uso da água (EUA), nenhum dos três genótipos se destacou em função do aumento da concentração de PEG-6000 no meio de crescimento. Entretanto, comparado ao controle, plântulas de BAT 477 mantiveram a EUA em todas as concentrações de PEG-6000 testadas; plântulas de Olathe Pinto reduziram a EUA já no meio de crescimento contendo 20 kg m⁻³ de PEG-6000 (redução de 47%) e as plântulas de Pérola apresentaram redução de EUA somente a partir do meio de crescimento contendo 60 kg m⁻³ (redução de 71%) (Tabela 1). O fato de o genótipo BAT 477 não ter apresentado o mecanismo de aumento da EUA, no presente estudo, pode ser devido tanto à duração da deficiência hídrica (plântulas em contato com PEG-6000 por seis dias), quanto ao uso da água ser mais eficiente em resposta a tratamentos mais severos de deficiência hídrica (ROSALES et al., 2012). Comparando-se a EUA do genótipo BAT 477 e Pérola na concentração de 60 kg m⁻³ de PEG-6000, foi possível observar a superioridade do genótipo considerado tolerante em relação ao sensível (Tabela 1). Esse resultado demonstra maior eficiência do uso da água do genótipo considerado tolerante à deficiência hídrica na concentração mais elevada de PEG-6000 avaliada.

Os dados de redução de A e E, além da manutenção da EUA nas plântulas de BAT 477, mostraram que este genótipo supera períodos de falta d'água mais eficientemente do que os outros genótipos estudados, no período inicial de desenvolvimento da planta. Sugere-se, então, que o genótipo BAT 477 pode produzir ácido abscísico (ABA) anteriormente e, muito provavelmente, em nível mais alto, ou até mesmo seja mais responsivo a esse fitormônio do que os outros genótipos, visto que o ABA é conhecido como o principal fator de controle da condutância estomática (KHAN; HAKEEM, 2014).

Assim, mecanismos indicadores de tolerância à deficiência hídrica observados no genótipo BAT 477, de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, parecem ter sido originários de um conjunto de respostas resultante da combinação de mecanismos de adaptação localizados na parte aérea: redução na A e E (atributos fisiológicos) e, conseqüentemente na AF e BMSPA (atributos morfológicos). Para o melhoramento do feijoeiro comum, entendimento adicional dos mecanismos de tolerância à deficiência hídrica, em estádios iniciais do desenvolvimento da planta, faz-se necessário. Para isso, é importante explorar características que não foram contempladas neste estudo como comprimento de raiz, ajustamento osmótico, conteúdo relativo de água, potencial hídrico foliar antemanhã e frequência e atividade de estômatos, relacionadas à tolerância à deficiência hídrica inicial (ocorrência de períodos de estiagem em plantas no estádio vegetativo), possibilitando contribuição nos processos de seleção de genótipos de feijoeiro comum tolerantes a esse estresse.

Em síntese, o meio de crescimento acrescido de PEG-6000 apresenta eficácia na simulação da deficiência hídrica em plantas de feijoeiro comum e, para as condições experimentais apresentadas, a concentração de 40 kg m^{-3} de PEG-6000 ($\Psi_s = -0,036 \text{ MPa}$) foi a mais indicada, uma vez que, por um lado, ativou respostas morfofisiológicas e, por outro, não desencadeou o processo de senescência na planta. Assim, a técnica de seleção inicial em condições controladas e reprodutíveis, como a mostrada neste estudo, viabiliza a identificação de mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em plantas de feijoeiro comum e acelera, preliminarmente, o processo de seleção de cultivares mais tolerantes para suprimento de informações no programa de melhoramento genético do feijoeiro comum.

Conclusões

A concentração de 40 kg m^{-3} de PEG-6000 simula a deficiência hídrica no meio de crescimento de plântulas de feijoeiro comum e discrimina genótipos com características contrastantes para tolerância à seca.

Dentre as características morfofisiológicas, área foliar e taxas fotossintética e transpiratória são os indicadores primários de resposta à deficiência hídrica em todas as concentrações de PEG-6000 testadas, independentemente do genótipo avaliado.

A estratégia de seleção de genótipos de feijoeiro comum mais tolerantes à deficiência hídrica é eficaz e pode auxiliar o programa de melhoramento genético desta espécie.

Referências

ASFAW, A.; BLAIR, M. W. Quantitative trait loci for rooting pattern traits of common beans grown under drought stress versus non-stress conditions. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 30, n. 2, p. 681-695, Aug. 2012.

BEEBE, S. E. Common bean breeding in the tropics. **Plant Breeding Reviews**, Westport, v. 36, p. 357-426, 2012.

BEEBE, S. E.; RAO, I. M.; CAJIAO, C.; GRAJALES, M. Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. **Crop Science**, Madison, v. 48, n. 2, p. 582-592, Mar./Apr. 2008.

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress. **Hortscience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, 1986.

CARPITA, N.; SABULARSE, D.; MONTEZINOS, D.; DELMER, D. P. Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. **Science**, New York, v. 205, n. 4411, p. 1144-1147, Sept. 1979.

CORTÉS, A. J.; MONSERRATE, F. A.; RAMÍREZ-VILLEGAS, J.; MADRIÑÁN, S.; BLAIR, M. W. Drought tolerance in wild plant populations: the case of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plos One**, v. 8, n. 5, p. e62898, May 2013.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Cali: CIAT, 1986. 33 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GHANBARI, A. A.; SHAKIBA, M. R.; TOORCHI, M.; CHOUKAN, R. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. **European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 1, p. 487-492, 2013.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32 p.

KHAN, F.; HAKEEM, K. R. Cell signaling during drought and salt stress. In: HAKEEM, K. R.; REHMAN, R. U.; TAHIR, I. (Ed.). **Plant signaling: understanding the molecular crosstalk**. New Delhi: Springer, 2014. p. 227-239.

LAURIANO, J. A.; LIDON, F. C.; CARVALHO, C. A.; CAMPOS, P. S.; MATOS, M. C. Drought effects on membrane lipids and photosynthetic activity in different peanut cultivars. **Photosynthetica**, Prague, v. 38, n. 1, p. 7-12, Oct. 2000.

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

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 51, n. 5, p. 914-916, May 1973.

MIKLAS, P. N.; KELLY, J. D.; BEEBE, S. E.; BLAIR, M. W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 147, n. 1, p. 105-131, Jan. 2006.

MORAES, G. A. F. de; MENEZES, N. L. de. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 219-226, mar./abr. 2003.

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

MURILLO-AMADOR, B.; LÓPEZ-AGUILAR, R.; KAYA, C.; LARRINAGA-MAYORAL, J.; FLORES-HERNÁNDEZ, A. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Weinheim, v. 188, n. 4, p. 235-247, Aug. 2002.

OMAE, H.; KUMAR, A.; SHONO, M. Adaptation to high temperature and water deficit in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the reproductive period. **Journal of Botany**, v. 2012, article ID 803413, p. 1-6, Mar. 2012.

PEREIRA, M. D.; LOPES, J. C. Germinação e desenvolvimento de plântulas de pinhão manso sob condições de estresse hídrico simulado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1837-1842, 2011. Suplemento 1.

PINHEIRO, P. V.; FARIA, J. C. de; NOGUEIRA, E. O. P. e L.; ARAGÃO, F. J. L. Transgene inheritances and genetic similarities of near isogenic lines of genetically modified common beans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 9, p. 1168-1176, set. 2009.

PINZÓN-TORRES, J. A.; SCHIAVINATO, M. A. Crescimento, eficiência fotossintética e eficiência do uso da água em quatro espécies de leguminosas arbóreas tropicais. **Hoehnea**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 395-404, 2008.

RAMIREZ-VALLEJO, P.; KELLY, J. D. Traits related to drought resistance in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 99, n. 2, p. 127-136, Feb. 1998.

ROSALES, M. A.; CUELLAR-ORTIZ, S. M.; DE LA PAZ, A. M. M.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; COVARRUBIAS, A. A. Physiological traits related to terminal drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. 2, p. 324-331, Jan. 2013.

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**, Paris, v. 56, p. 24-34, July 2012.

SONG, S.; CHEN, Y.; ZHAO, M.; ZHANG, W-H. A novel *Medicago truncatula* HD-Zip gene, MtHB2, is involved in abiotic stress response. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 80, p. 1-9, Aug. 2012.

SOUSA, M. A. de; LIMA, M. D. B. Índice de área foliar e produtividade do feijoeiro sob estresse hídrico e profundidades de incorporação do adubo. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 5, n. 2, p. 45-55, maio/ago. 2012.

SOUSA, M. A. de; LIMA, M. D. B. Influência da supressão da irrigação em estádios de desenvolvimento do feijoeiro cv. Carioca comum. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 550-557, jul./ago. 2010.

SVETLEVA, D.; KRASSTEV, V.; DIMOVA, D.; MITROVSKA, Z.; MITEVA, D.; PARVANOVA, P.; CHANKOVA, S. Drought tolerance of Bulgarian common bean genotypes, characterized by some biochemical markers for oxidative stress. **Journal of Central European Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 349-361, 2012.

TARDIEU, F. Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 4, p. 1-11, Feb. 2013.

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**, Limerick, v. 168, n. 1, p. 223-231, Jan. 2005.

WOOD, D. R.; KEENAN, J. G. Registration of Olathe bean (Reg. No. 36). **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 6, p. 1259-1260, Nov./Dec. 1982.

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

YOKOYAMA, L. P.; DEL PELOSO, M. J.; DI STEFANO, J. G.; YOKOYAMA, M. **Nível de aceitabilidade da cultivar de feijão "Pérola": avaliação preliminar**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 20 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 98).