



**SELEÇÃO PRECOCE DE PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)
TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO INDUZIDO POR PEG 6000.**

Bruna **Sabbatini**¹; Daiane Mariele **de Laet**²; Carlos Augusto **Colombo**²; João Guilherme Ribeiro **Gonçalves**³; Sérgio Augusto Morais **Carbonell**⁴

Nº 14104

RESUMO: *O feijão é uma semente, utilizado na alimentação de vários países, principalmente no Brasil. É um alimento muito saudável por ser fonte de nutrientes que são essenciais para a saúde, apesar de possuir um cultivo difícil por ser pouco resistente à seca. Tem grande importância na dieta dos brasileiros, contendo proteínas, ferro e carboidratos. É também uma das principais fontes de proteínas das populações de baixa renda e tem grande importância econômica e social. Esse projeto teve como finalidade, selecionar precocemente os melhores genótipos induzido pelo déficit hídrico causado por PEG 6000. Foram analisados 42 genótipos de feijoeiro quanto aos danos fenotípicos causados conforme a duração da deficiência hídrica e condutância estomática das plantas.. Foram analisados e comparados todos os 42 cultivares, a fim de eleger e descobrir quais foram os mais resistentes ao estresse hídrico. Os genótipos mais resistentes à deficiência hídrica foram o IAPAR-14 e o RUBI, pois foram os que apresentaram as menores médias. E os piores foram o IAC YBATÉ e o BRSMG TALISMÃ, pois apresentaram as maiores médias, estes resultados são semelhantes a outros estudos em campo com feijão.*

Palavras-chaves: *deficiência hídrica, Phaseolus vulgaris, PEG, seleção precoce*

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP; Bruna sabbatini@hotmail.com

2 Colaboradora: Pesquisadora Pós-doc, Centro de Grãos e Fibras, Instituto Agrônomo – IAC, São Paulo – SP. Bolsista PNPd Capes, daianelaat@gmail.com.

3 Colaborador: Pesquisador, Centro de Recursos Genéticos, Instituto Agrônomo – IAC, São Paulo – SP.

4 Colaborador: Pesquisador Pós-doc, Centro de Grãos e Fibras, Instituto Agrônomo – IAC, São Paulo – SP. Bolsista PNPd Capes.

5 Orientador: Pesquisador, Centro de Grãos e Fibras, Instituto Agrônomo – IAC, São Paulo – SP, scarbonell@iac.sp.gov.br



ABSTRACT- The bean is a seed used as food in many countries, especially in Brazil. It is a very healthy food for being a source of nutrients that are essential for health, despite having a difficult crop to be somewhat resistant drought. Have great importance in the Brazilian diet containing protein, iron and carbohydrates. It is also a major source of proteins of low-income populations and has great economic and social importance. This project aimed to select the best genotypes induced water stress caused by PEG early 6000. PEG 600 is a compound that binds to a molecule of water, providing only a portion of it to be absorbed by the seedling. We tested 42 common bean genotypes notes to the plants were assigned according to the degree of water stress generated by PEG 6000 solution. Was analyzed and the amount of open stomata in a region of the leaf surface, controlling water loss by leaves and capture of CO₂ by photosynthesis through the Porometer. Were analyzed and compared all 42 cultivars in order to vote and discover what were the most resistant to water stress. Conclude that the most resistant to drought were Iapar-14 and RUBY, as were those with the lowest averages. And the worst were the IAC YBATÉ BRSMG TALISMAN and therefore had the highest average, proving that they are not drought resistant will.

Key-words: *water stress, beans, water, PEG 6000.*

1. INTRODUÇÃO

O feijão é um dos principais integrantes da alimentação da população brasileira, sendo um dos maiores produtores do mundo. E é constituído de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e composto denominado fenólico com ação antioxidante que pode diminuir a incidência de doenças, o que torna estes, essenciais para a dieta da população. (PAIVA et al, 2005)

A água é um fator essencial para a produção de feijoeiro e a falta dela dificulta bastante seu desenvolvimento e rendimento, comprometendo a sua produção. Além de causar a falta de nutrientes e seu ressecamento. (RIVELLI et al, 2006).

O déficit hídrico pode ser definido como qualquer conteúdo de água de um tecido ou célula abaixo daquela exibida quando a planta está no seu nível mais alto de hidratação (TAIZ e ZEIGER. 2002). Os primeiros sinais de estresse hídrico são evidentes nas folhas, embora outras alterações ocorram nas raízes, que é a primeira estrutura a sofrer com a falta de água. O estresse hídrico em altos níveis e em tempo prolongado gera alterações quantitativas e qualitativas no metabolismo das plantas e leva a adoção de mecanismos em que as plantas conseguem tolerar o estresse hídrico e recuperar-se (KAVAR et al, 2008).



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

O polietilenoglicol (PEG 6000) é utilizado para simular níveis baixos de água, por isso, quanto maior for sua concentração, menor será a quantidade de água disponível. Esse composto foi utilizado para induzir a planta a se adaptar quanto ao estresse hídrico, sendo que este não traz nenhum prejuízo à planta, não penetrando na célula, não é degradado e não causa toxidez e foi utilizado com quantidades adequadas para um melhor resultado (MICHEL e KAUFMANN, 1973).

Plantas que sofrem estresse hídrico tendem a fechar seus estômatos para a preservação da água no seu interior. Os estômatos regulam o fluxo transpiratório para a atmosfera e o fluxo de CO₂ para o interior da folha. A densidade estomática, o grau de abertura do poro estomático e a sua regulação, são de extrema importância para a adaptação das espécies, principalmente de regiões semi-áridas ou de ambientes sazonais, onde há uma grande seca (PIERCE et al, 2006). Há uma maior densidade estomática quando as folhas estão expostas à alta irradiação solar e baixa disponibilidade hídrica que estaria relacionado a um melhor controle da condutância estomática (LERAS, 1974). Assim este projeto visou avaliar plântulas de várias procedências de feijoeiro sob deficiência hídrica induzido por PEG 6000, possibilitando a seleção precoce de cultivares tolerantes à seca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes das 42 cultivares foram germinadas em papel germinador, durante três dias. Depois de 15 a 20 dias as sementes germinadas foram transferidas para caixas de vermiculita para que ocorresse o seu desenvolvimento até o aparecimento do primeiro trifolíolo. As plântulas foram transferidas para a sala de hidroponia, onde foi realizado o experimento. Dez plântulas de cada cultivar foram colocadas em tubos tipo Falcon contendo solução de PEG 6000 4g. L⁻¹ (tratamento) e dez em tubos com água (controle).

Foram atribuídas notas às plantas de acordo com seu nível de estresse hídrico em quatro tempos (2 h, 24 h, 48 h e 72 h). Sendo zero quando a folha estivesse sem sintomas de estresse, e quatro para quando estivesse totalmente degradadas (Figura 1).

Além disso, foi analisada a quantidade de estômatos abertos na superfície inferior da folha, por condutância estomática, através do Porômetro (Steady state Porometer, LI-1600) nos tempos de 2 e 24 horas..

As diferenças entre os valores das notas e de condutância estomática foram testados por Análise de Variância (ANOVA) e TuKey (nível de significância: $p < 0,05$) usando o programa de R (R Development Core Team, 2011). Os dados foram analisados tanto brutos (controle e tratamento) quanto relativos (tratamento menos o controle).



Figura 1: Escala de notas. Os números 0, 1, 2, 3 e 4 mostram como as plantas devem ser analisadas. Sendo zero para as folhas que se apresentaram sem sintomas, um para quando a folha estivesse um pouco caída, dois para quando estivesse um pouco murcha, três para quando estivesse muito murcha e quatro para quando estivessem totalmente degradadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância (ANOVA) indicou que há diferença significativa entre os tratamentos de água e PEG 6000, quando analisado os dados brotos (tratamento e controle separadamente). Os resultados indicaram que as plantas que se encontravam na solução de PEG 6000, tiveram notas muito maiores do que as que estavam no controle (água), ou seja, estavam com mais características de desidratação (Tabela 1).

As plantas que estavam em PEG tiveram notas maiores. Isso ocorre, pois o PEG 6000, é um componente que quando dissolvido em água, forma-se uma solução que força a planta a uma adaptação do estresse hídrico, levando estas a ficarem piores, ou seja, murchas e secas e sendo assim, terão as maiores notas, o que indica uma alta taxa de deficiência hídrica.

Tabela 1: Teste de médias entre os tratamentos de PEG 6000 e água (controle) (Tukey $p < 0,05$).

	Médias	M
PEG	1.735.548	a
CONTROLE	1.092.315	b

Quanto maior o tempo, maiores os valores das notas, ou seja, no primeiro tempo (2 horas), os valores eram menores, mostrando que não havia uma resposta das plântulas à escassez de água. No segundo tempo (24 horas), houve um aumento dos valores, mostrando um início de deficiência hídrica. No terceiro tempo (48 horas), houve um aumento ainda maior desses valores, dando a percepção clara de que as características de deficiência hídrica nas plantas estavam aumentando e no último tempo (72 horas), os valores eram os mais elevados, devido há uma deficiência hídrica muito maior, pelo contato das plantas com a solução de PEG 6000 (Tabela 2).



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Quanto mais tempo as plantas estão em contato com a solução de PEG 6000, maior será sua desidratação e esta chega a ser tão alto, causando a morte da plântula.

Tabela 2: Teste de médias nos tempos de 2h, 24h, 48h e 72h (Tukey $p < 0,05$).

Tempo	Médias	M
72 h	23E+09	a
48 h	1,87E+09	b
24 h	9,48E+08	c
2 h	3,63D+03	d

A análise de variância considerando as notas do tratamento menos as notas do controle mostrou diferença entre as cultivares. As cultivares IAC YBATÉ, BRSMG TALISMÃ, OPNS 331, CARIOCA COMUM, 2—MAR, C2-1-6-1, L507-1 e MAI—25 apresentaram as maiores médias entre as diferenças de notas (Tratamento-Controle). Isto sugere que estas cultivares sofrem mais com a deficiência hídrica e não conseguiram se adaptar à falta de água geradas pela solução de PEG 6000 (Tabela 3). As cultivares FEB 186, OPS-16, RUBI, 9979, CARIOCA MG, LP88-175, IAPAR-14, CANELUDO e MD 806 foram as que apresentaram os menores valores médios das notas.

Fazendo-se uma média das notas de água e PEG 6000 nos quatro tempos das cultivares que apresentaram os menores valores médios, observa-se que o IAPAR 14 e o Rubi foram os mais resistentes, pois todas as médias são baixas, tanto para água quanto para tratamento. O LP88-175, CARIOCA MG, 9979, OPS-16, FEB-186, não tiveram muita diferença entre os valores de água e PEG 6000. E já o MD 806 e o CANELUDO tiveram médias de água bem maiores do que as de PEG 6000.

Dentre os resultados obtidos, notou-se que os genótipos IAC YBATÉ e BRSMG TALISMÃ, foram os piores selecionados, ou seja, são sensíveis ao estresse hídrico, dentre outros como IAC VOTUPORANGA e o próprio CARIOCA COMUM que foi utilizado como controle. Eles foram os que tiveram menor diferença de nota entre a água e a solução de PEG 6000. E nota-se uma relação com outro experimento feito pelo grupo do feijão IAC, onde tiveram 30 genótipos de feijoeiro selecionados em função da produtividade de grãos em condições de déficit hídrico aplicado na pré-floração em casa de vegetação, onde o BRSMG, IAC VOTUPORANGA e CARIOCA COMUM, se repetem como os piores selecionados. Dentre os que tiveram maiores diferenças de nota entre água e PEG, foi o MD 806, CANELUDO, IAPAR- 14 FT- PAULISTINHA, entre outros. E nota-se uma relação com o experimento descrito a cima realizado pelo grupo do feijão IAC onde o FT-PAULISTINHA também é citado como um dos melhores, ou seja, são resistentes á seca.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Tabela 3: Teste de médias entre as cultivares relacionado à deficiência hídrica (Tukey $p < 0,05$).

<i>Cultivares</i>	<i>Valores</i>	<i>Grupos</i>
IAC YBATÊ	1.5500000	a
BRSMG TALISMÃ	1.5250000	a
OPNS 331	1.2500000	ab
CARIOCA COMUM	1.2250000	ab
2--MAR	1.2000000	abc
C2-1-6-1	1.1578947	abc
L507-1	1.1500000	abc
MAI--25	1.1250000	abcd
IAC VOTUPORANGA	1.0750000	abcde
IAPAR 57	1.0750000	abcde
BRANQUINHO	1.0500000	abcde
CV-48	0.9750000	abcdef
MEP 279	0.9250000	abcdefg
LH 2	0.9000000	abcdefg
IAPAR 72	0.9000000	abcdefg
IAPAR-57	0.8750000	abcdefgh
96A96-15	0.8750000	abcdefgh
L507-1	0.8500000	abcdefgh
CNFC 10470	0.7500000	bcdefghi
CHC 9729	0.7500000	bcdefghi
FEB 200	0.7250000	bcdefghi
RUDÓ	0.7250000	bcdefghi
FT- PORTO REAL BORDADURA	0.7250000	bcdefghi
TAQUARI	0.7250000	bcdefghi
CAMPEÃO 2	0.7000000	bcdefghi
P5-4-4-1	0.7000000	bcdefghi
CARIOCA TYBATÃ	0.6000000	bcdefghi
1—10	0.5750000	bcdefghi
GOYTA CAZES	0.5500000	bcdefghi
IAPAR 14	0.5250000	bcdefghij
F1 BONITO	0.4500000	cdefghij
FT-PAULISTINHA	0.3750000	defghij
GUARÁ	0.3500000	efghij
FEB 186	0.2750000	fghij
OPS-16	0.2500000	fghij
RUBI	0.2250000	fghij
9979	0.2250000	fghij
CARIOCA MG	0.1794872	ghij
LP88-175	0.1750000	ghij
IAPAR-14	0.1250000	hij
CANELUDO	0.0000000	ij
MD 806	0.2250000	j

Quanto às diferenças em relação ao tempo, o tempo 2 horas apresentou o menor valor da diferença entre tratamento e controle. Isto pode ser explicado porque neste tempo as plântulas ainda não tinham sido afetadas pela deficiência hídrica. O tempo 24 horas foi o que teve a maior



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

variação entre as plântulas que estavam em solução de PEG 6000 quando comparadas ao controle (água). E nos tempos 48 e 72 horas, houve uma menor variação entre os valores, pois tanto as plantas que estavam em água quanto as que estavam na solução de PEG 6000. Já apresentavam sinais acentuados de desidratação (Tabela 4). Este resultado indica que o tempo de 24 horas é o mais adequado para se fazer a seleção de plântulas.

Tabela 4: Teste de médias das notas entre os tempos 2, 24, 48 e 72 horas.

<i>Tempo</i>	<i>Medias</i>	<i>M</i>
24 h	1,02E+09	a
72 h	8,34E+08	b
48 h	7,29E+08	b
2 h	1,81D+03	c

As análises de condutância estomática feitas separadamente nas plântulas em solução de PEG 6000 e em água mostraram diferenças entre os tempos avaliados. Observa-se que as plântulas quando em contato com água (controle), apresentam os maiores valores, pois as plantas não estão sentindo ainda os efeitos da falta de água. Observou-se que as plântulas quando estão em contato com a solução PEG 6000, apresentam os menores valores, pois as plantas já são afetadas pela falta de água gerada pelo PEG 6000, fazendo com que as folhas destas fiquem secas e murchas e conseqüentemente caiam (Tabela5).

Tabela 5: Teste de médias dos valores de condutância estomática de água e PEG após 2 horas e 24 horas (Tukey $p < 0,05$).

Tempo	Água (Controle)	PEG (tratamento)
2h	269.73030 a	220.2188 a
24h	52.06667b	14.0000 b

4. CONCLUSÃO

Os genótipos IAC YBATÉ e BRSMG TALISMÃ foram os mais sensíveis à deficiência hídrica, apresentando uma pequena diferença entre os valores de água e PEG. Os genótipo mais resistentes a deficiência hídrica foram o IAPAR-14 e o RUBI, pois apresentaram as menores médias, tanto para água quanto para PEG. Para a seleção precoce de plântulas de feijoeiro induzidos por deficiência hídrica, o tempo de 24 horas é o mais adequado.

5. AGRADECIMENTOS



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida e pela grande oportunidade de estágio. E agradeço aos pesquisadores do IAC pela orientação e auxílio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, M.A.C., ARF, O., SÀ. M. E., BUZETTI. S., SANTOS. N. C. B., BASSAN .D. A. Z. **Produtividade e qualidade de sementes do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio**, 2001 R. Bras. Ci. Solo, 25:617-624

HOFFMAN, W.A.; FRANCO, A.C.; MOREIRA, M.Z. & HARIDASAN, M. **Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees**, 2005 Functional Ecology 19: 932-940.

KAVAR, T.; MARAS M.; SUSTAR-VOZLIC J.; MEGLIC, V. **Identification of genes involved in the response of leaves of Phaseolus vulgaris to drought stress mol breeding**, 2008 Mol breed 21:159-172

LLERAS, E. **Differences in stomatal number per unit are within the same species under different micro-environmental conditions: A working hypothesis**, 1974 Acta Amazonica 7: 473-476.

MESQUITA, Fabrício.F. R. et al. **Linhagens de feijão (Phaseolus vulgaris L.): composição química e digestibilidade protéica**, 2006 Lavras.

MICHEL. B. E. and KAUFFMANN. M. R. **The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000**, 1973 Plant Physiology 51:914-916.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D.; TURCO, J. E. P. **Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação**, 2005. Eng. Agríc. 25:161-169

PEARCE, D.W.; Millard, S.; Bray, D.F. & Rood, S.B. **Stomatal characteristics of riparian oplar species in a semi-arid**, 2006.

R Development Core Team. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. ISBN 3-900051-07-0, URL.

ROSSATTO, D. R., HOFFMANN, W. A., FRANCO, A. C. **Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central**, 2005 Functional Ecology.

TAIZ, L and ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 2002. 3. Ed. Sinauer Associates.