



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FELIPE FAVORETTO FURLAN

**ACIBENZOLAR - S - METHYL NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO-COMUM
SUBMETIDOS A DÉFICIT HÍDRICO**

Londrina
2020

FELIPE FAVORETTO FURLAN

**ACIBENZOLAR - S - METHYL NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO-COMUM
SUBMETIDOS A DÉFICIT HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial para a obtenção do título de
doutor em Agronomia.

Orientador: Prof^a. Dra. Lucia Sadayo Assari
Takahashi.

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

F985a Furlan, Felipe Favoretto.
ACIBENZOLAR - S - METHYL NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO-COMUM SUBMETIDOS AO DÉFICIT HÍDRICO / Felipe Favoretto Furlan. - Londrina, 2020.
83 f. : il.

Orientador: Lucia Sadayo Assari Takahashi.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Ácido salicílico - Tese. 2. Antioxidante - Tese. 3. Embebição de sementes - Tese. 4. Estresse oxidativo - Tese. I. Takahashi, Lucia Sadayo Assari . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

FELIPE FAVORETTO FURLAN

**ACIBENZOLAR - S - METHYL NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
PLÂNTULAS DE FEIJÃO-COMUM SUBMETIDOS A DÉFICIT
HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial para a obtenção do título de
doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a Dra. Lúcia Sadayo Assari
Takahashi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^o. Dr. Fernando Teruhiko Hata
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Cristina Célia Krawulski
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná –
EMATER / IAPAR

Dra. Gisely Paula Gomes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Marli Candalaft Alcantara Parra Perez
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná –
EMATER / IAPAR

Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof Dr. Gustavo Henrique Freiria
Centro Universitário Filadélfia - UNIFIL

Londrina, 20 de fevereiro de 2020.

*Aos meus pais,
Luiz Carlos e Luciane,
por tornarem possível
esta conquista!*

Agradecimentos

A Deus, pelas graças concedidas durante este período.

A Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro.

A minha orientadora Profa Dra Lúcia Sadayo Assari Takahashi, pelo apoio, paciência e todo o conhecimento transmitido, além da amizade e o incentivo desmostrados diariamente.

Aos amigos Gustavo, Guilherme Cito, Verônica, Douglas, Guilherme Gomes, José Henrique, André, Mônica, Nicolas e Rodrigo, pelos momentos de convivência e pela disponibilidade em ajudar sempre que preciso.

A todos os docentes que participaram da minha formação.

Aos alunos e funcionários que de alguma forma auxiliaram na realização deste trabalho.

A minha família pelo apoio ao percorrer do curso, em especial aos meus pais Luiz Carlos e Luciane, pelo carinho e por proporcionar todas as condições necessárias para vencer este desafio.

A minha esposa Fátima, por estar presente nessa caminhada, apoiando em todos os momentos, sempre com amor e carinho, Te amo!

Ao meu irmão Mateus, pela parceria e amizade em todos esses anos e por ajudar sempre que preciso.

Aos meus avós e tios por ajudarem e apoiarem em todos os momentos.

Muito obrigado!

FURLAN, Felipe Favoretto. **Acibenzolar-s-methyl no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum submetidos a déficit hídrico**. 2020. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

As plantas estão a mercê de uma série de agentes, bióticos ou abióticos, capazes de influenciar de maneira deletéria seu rendimento final. Dentre eles, a disponibilidade hídrica aparece como fator limitante para o desenvolvimento vegetal, uma vez que a maior porcentagem das reações metabólicas, da germinação até a maturação de sementes, está intimamente relacionada com a presença da água. Assim, em condição de déficit hídrico, as plantas ativam mecanismos de defesa para atenuar os problemas gerados, inclusive o combate ao estresse oxidativo. Este processo é mediado pela presença de enzimas antioxidativas, capazes de reduzir a ação dos radicais livres, sendo que a produção destas é estimada pela presença de ácido salicílico (AS). Neste contexto, a aplicação de produtos que estimulam a síntese de AS torna-se viável, uma vez que o acúmulo deste composto pode induzir a produção de enzimas antioxidantes, essenciais no processo de indução de resistência sistêmica adquirida (RSA). Assim, o acibenzolar-s-methyl (ASM) aparece como alternativa na indução da RSA, pois é um composto sintético, de baixa toxicidade e precursor da cadeia de síntese de AS. Com base no exposto, o objetivo foi caracterizar a dinâmica de absorção de água em sementes de feijão-comum em relação a composição centesimal, mineral e bromatológica acondicionadas em ambientes com e sem restrição hídrica; além de avaliar o efeito de doses de acibenzolar-s-methyl (ASM) aplicadas no tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum submetidos ao estresse hídrico e foi avaliar o efeito da aplicação de acibenzolar-s-methyl no tratamento de sementes sobre o desenvolvimento vegetativo e atividade fisiológica de plantas de feijão-comum. Dividiu-se o trabalho em experimentos distintos: O primeiro foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) utilizando sementes de genótipos de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru e IPR Gralha) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió). Para a caracterização da curva de embebição, realizou-se 10 repetições por genótipo, sendo que as sementes foram acondicionadas em câmaras de umedecimento com diferentes potenciais osmóticos, sem e com restrição hídrica (-0,4 MPa), totalizando 120 unidades experimentais. Aquelas sem restrição hídrica foram pesadas a 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 12; 15; 24; 30; 36 horas, já para aquelas com restrição, adicionou-se dois tempos, 48 e 72 horas. Simultaneamente, a caracterização da curva de embebição determinou-se a composição centesimal, mineral e bromatológica, com o intuito de verificar sua relação com a taxa de absorção de água. Para as horas de embebição foi aplicado análise de regressão até o polinômio de terceiro grau e, posteriormente, realizou-se a correlação de Pearson com as características químicas em cada tempo e condição hídrica. O segundo experimento foi realizado no LAS e conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5x4, sendo cinco concentrações de acibenzolar-s-methyl (ASM) (0,062; 0,125; 0,25 e 0,5 g de Bion 500 WG®) e quatro condições hídricas (0,0; -0,2; -0,4 e -0,8 MPa), sendo cada tratamento constituído por oito repetições sendo considerado cada rolo de germinação uma unidade experimental. Utilizou-se sementes de feijão-comum pertencentes ao grupo carioca (Cultivar Campos Gerais), sendo assim avaliou-se o potencial fisiológico das sementes e a atividade enzimática do metabolismo de defesa vegetal. O terceiro foi conduzido em casa de vegetação, com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 (IPR Uirapuru, IPR Curió, IPR Gralha e IPR Campos Gerais) x 2 (com e sem restrição hídrica) x 2 (acibenzolar-s-methyl (ASM) e equivalente em água), com quatro repetições, totalizando 64 unidades

experimentais. Em relação ao primeiro experimento, foi possível verificar que sementes de feijão-comum acondicionadas em ambiente sem restrição hídrica necessitam de 36 horas para emitirem os primórdios radiculares, enquanto aquelas em ambiente com restrição hídrica (-0,4 MPa), precisam de 72 horas. Não houve diferença no processo de embebição para os genótipos de feijão-comum dos grupos preto e carioca, independente do ambiente de acondicionamento. Porém, ao alterar o ambiente de acondicionamento, ocorre oscilação na correlação dos componentes químicos e na absorção de água, sendo que a hemicelulose, o cálcio, o manganês e o cobre apresentaram correlação positiva com a absorção de água nas primeiras horas do processo. A celulose apresentou correlação negativa com a absorção de água nas primeiras horas de embebição e, com restrição hídrica, a presença de proteína aumentou sua influência neste processo. Já, para o segundo, foi verificado que a aplicação de ASM proporcionou a manutenção dos níveis iniciais do potencial fisiológico de sementes, sendo a dose de 0,130 gramas de Bion suficiente. Os níveis de proteínas e catalase aumentam conforme elevou-se o nível de estresse e a dose de ASM, porém o oposto foi constatado para a peroxidase e a fenilalanina amônia liase. Com relação ao estresse hídrico, verificou-se que a partir de -0,8 MPa ocorreu um decréscimo no potencial fisiológico das sementes, independente a dose de ASM aplicada. Por fim, de acordo com o terceiro, o tratamento de sementes com ASM reduziu o período de estágio vegetativo do feijoeiro, assim como o número de vagens, sendo que as plantas cultivadas com restrição hídrica emergiram de forma tardia, e sinalizaram uma redução na concentração de clorofila b. A aplicação de ASM no tratamento de sementes resultou na redução da área foliar total de plantas durante o florescimento e, quando associado a restrição hídrica, apresentou os menores índices. Concluiu-se que de acordo com a intensidade da condutância estomática foi possível mensurar o estresse fisiológico das plantas.

Palavras-chave: Ácido salicílico. Antioxidante. Embebição de sementes. Estresse oxidativo.

FURLAN, Felipe Favoretto. **Acibenzolar-s-methyl in the initial development of common bean seedlings submitted to water deficit**. 2020. 84 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

ABSTRACT

Plants are at the mercy of a series of agents, biotic or abiotic, capable of deleteriously influencing their final yield. Among them, water availability appears as a limiting factor for plant development, since the highest percentage of metabolic reactions, from germination to seed maturation, is closely related to the presence of water. Thus, in a condition of water deficit, plants activate defense mechanisms to mitigate the problems generated, including combating oxidative stress. This process is mediated by the presence of antioxidative enzymes, capable of reducing the action of free radicals, and their production is estimated by the presence of salicylic acid (AS). In this context, the application of products that stimulate AS synthesis is feasible, since the accumulation of this compound can induce the production of antioxidant enzymes, essential in the process of inducing acquired systemic resistance (RSA). Thus, acibenzolar-s-methyl (ASM) appears as an alternative in the induction of RSA, as it is a synthetic compound, of low toxicity and precursor of the AS synthesis chain. Based on the above, the objective was to characterize the water absorption dynamics in common bean seeds in relation to the centesimal, mineral and chemical composition conditioned in environments with and without water restriction; in addition to evaluating the effect of doses of ASM applied in seed treatment in the initial development of common bean seedlings subjected to water stress and lastly, was to evaluate the effect of applying ASM in the treatment of seeds on vegetative development and physiological activity of common bean plants. The work was divided into different experiments: The first was carried out at the Seed Analysis Laboratory (LAS) using seeds from common bean genotypes of the black group (IPR Tuiuiu, IPR Uirapuru and IPR Galha) and carioca group (IPR Tangará, IPR Campos Gerais and IPR Curió). For the characterization of the imbibition curve, 10 repetitions per genotype were performed, and the seeds were placed in moistening chambers with different osmotic potentials, without and with water restriction (-0.4 MPa), totaling 120 experimental units. Those without water restriction were weighed at 0.5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 12; 15; 24; 30; 36 hours, for those with restrictions, two times were added, 48 and 72 hours. Simultaneously, the characterization of the imbibition curve was determined the chemical, mineral and chemical composition, in order to verify its relationship with the water absorption rate. For the imbibition hours, regression analysis was applied up to the third degree polynomial and, subsequently, Pearson's correlation with the chemical characteristics in each time and water condition was performed. The second experiment was performed at the LAS and conducted in a completely randomized design, with a 5x4 factorial scheme, with five concentrations of ASM (0.062; 0.125; 0.25 and 0.5 g of Bion 500 WG[®]) and four water conditions (0.0; -0.2; -0.4 and -0.8 MPa), with each treatment consisting of eight repetitions, each germination roll being considered an experimental unit. Common bean seeds belonging to the Carioca group (Cultivar Campos Gerais) were used, thus evaluating the physiological potential of the seeds and the enzymatic activity of the plant defense metabolism. The third was conducted in a greenhouse, with a completely randomized design, in a factorial scheme 4 (IPR Uirapuru, IPR Curió, IPR Galha and IPR Campos Gerais) x 2 (with and without water restriction) x 2 (ASM and water equivalent), with four replications, totaling 64 experimental units. Regarding the first experiment, it was possible to verify that common bean seeds stored in an environment without water restriction need 36 hours to emit the root, while those in an environment with water restriction (-0.4 MPa), need 72 hours. There was no difference in the

imbibition process for the common bean genotypes of the black and carioca groups, regardless of the packaging environment. However, when changing the packaging environment, oscillation in the correlation of chemical components and water absorption occurs, with hemicellulose, calcium, manganese and copper showing a positive correlation with water absorption in the first hours of the process. Cellulose showed a negative correlation with water absorption in the first hours of imbibition and, with water restriction, the presence of protein increased its influence in this process. For the second, it was verified that the application of ASM provided the maintenance of the initial levels of the physiological potential of seeds, with a dose of 0.130 grams of Bion sufficient. The levels of proteins and catalase increase as the level of stress and the dose of ASM increased, but the opposite was found for peroxidase and phenylalanine ammonia lyase. Regarding water stress, it was found that from -0.8 MPa there was a decrease in the physiological potential of the seeds, regardless of the applied ASM dose. Finally, according to the third, the treatment of seeds with ASM reduced the period of vegetative stage of the bean, as well as the number of pods, and plants cultivated with water restriction emerged late, and signaled a reduction in concentration chlorophyll b. The application of ASM in the treatment of seeds resulted in the reduction of the total leaf area of plants during flowering and, when associated with water restriction, presented the lowest indexes. It was concluded that, according to the intensity of stomatal conductance, it was possible to measure plant physiological stress.

Keywords: Salicylic acid. Antioxidant. Seed soak. Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.7.1** Representação gráfica da molécula sintética de acibenzolar-s-methyl (ASM) 29
- Figura 3.5.1** Curvas de embebição de água de sementes de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Gralha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionadas em ambiente não estressante 41
- Figura 3.5.2** Curvas de embebição de água de sementes de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Gralha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionadas em ambiente estressante (-0,4 MPa) 42
- Figura 3.5.3** Curvas médias de embebição de água de sementes de feijão-comum condicionadas em ambientes estressante (-0,4 MPa) e não estressante 43
- Figura 4.5.1** A - Primeira contagem de germinação (PCG), B - germinação (GER), C - plântulas normais (PN) e D - comprimento de parte aérea (CPA) e E – comprimento de raiz (CR) de sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico e submetidas a doses de acibenzolar-s-methyl (ASM) 59
- Figura 4.5.2** Concentrações de A - proteínas (PROT), B - peroxidase (PER) e C - fenilalanina amônia liase (FAL) em sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico 63
- Figura 4.5.3** Concentrações de A - proteínas (PROT), B - catalase (CAT), C - peroxidase (PER) e D - fenilalanina amônia liase (FAL) em sementes de feijão-comum do grupo carioca em relação a diferentes doses de acibenzolar-s-methyl 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.5.1	Representação química, características e ação das principais espécies reativas de oxigênio atuantes no metabolismo vegetal.....	26
Tabela 3.5.1	Equações de regressão polinomial de curvas de embebição de genótipos de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Galha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionados em ambientes sem e com estresse (-0,4 MPa)	44
Tabela 3.5.2	Correlação simples de Pearson entre componentes químicos/nutricionais e períodos de embebição de água por sementes de feijão-comum condicionadas em ambientes sem e com estresse (-0,4 MPa)	45
Tabela 4.5.1	Análise de variância com valores dos quadrados médios para as características proteína (PROT), catalase (CAT), peroxidase (PER), fenilalanina amônia liase (FAL), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de feijão-comum dos grupos carioca submetidas a diferentes doses de ASM e níveis de estresse hídrico	57
Tabela 4.5.2	Primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), plântulas normais (PN) e comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico e submetidas a doses de acibenzolar-s-methyl (ASM).....	62
Tabela 5.5.1	Análise de variância com valores dos quadrados médios para as características dias para emergência (DPE), dias para florescimento (DPF), área foliar total - florescimento (AFT-FL), condutância estomática - florescimento (CE-FL), clorofila A (CLO-A), clorofila B (CLO-B), carotenoides (CAR), número de vagens por planta (NV), massa de mil sementes (MMS) e concentração de ácido salicílico (AS) de genótipos de feijão-comum submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.....	74

Tabela 5.5.2	Dias para emergência (DPE), dias para florescimento (DPF), área foliar total - florescimento (AFT-FL), clorofila B (CLO-B), carotenoides (CAR), número de vagens por planta (NV) e massa de mil sementes (MMS) de genótipos de feijão-comum submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.....	76
Tabela 5.5.3	Dias para florescimento (DPF) em relação a interação entre genótipos e níveis de estresse e área foliar total no florescimento (AFT-FL) de acordo com a interação entre tratamento de sementes e níveis de estresse.....	78
Tabela 5.5.4	Condutância estomática de genótipos de feijão-comum dos grupos carioca e preto submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.....	79

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AFT – FT	rea foliar total no florescimento.
AOAC	AOAC Internacional, métodos oficiais de análise.
APX	ascorbato peroxidase.
AS	cido salicílico.
ASM	acibenzolar - s - metil.
BTH	benzoatiadozole.
Ca	cálcio.
CAR	carotenoides.
CARB	carboidratos.
CAT	catalase.
CE	condutância estomática.
CEL	celulose.
CIN	cinzas.
CLO – A	clorofila a.
CLO – B	clorofila b.
CO ₂	dióxido de carbono.
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento.
CPA	comprimento de parte aérea.
CR	comprimento radicular.
Cu	cobre.
D	dose de Bion.
DNA	cido desoxirribonucleico.
DPE	dias para emergência.
DPF	dias para florescimento.
E	estresse.
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
ERO's	espécies reativas de oxigênio.
FAL	fenilalanina amônia liase.
Fe	ferro.
GER	germinação.
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio.
HCEL	hemicelulose.

HO [·]	hidroxila.
IA	índice de absorção.
K	potássio.
LIG	lignina.
LIP	lipídios.
MCS	massa de cem sementes.
Mg	magnésio.
MMS	massa de mil sementes.
Mn	manganês.
Mpa	megapascal.
MPS	massa papel seco.
NADPH	fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina.
NV	número de vagens.
O ₂	oxigênio singlete
O ₂ ^{·-}	superóxido.
OH	radical hidroxila.
P	fósforo.
PA	plântulas anormais.
PCG	primeira contagem de germinação.
PEG 6000	polietilenoglicol.
PER	peroxidase.
PN	plântulas normais.
PROT	proteínas.
RAS	regras para análise de sementes.
RSA	resistência sistêmica adquirida.
SOD	superóxido dismutase.
VC	volume de calda.
Zn	zinco.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	ORIGEM, DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO FEIJÃO-COMUM	18
2.2	ASPECTOS BOTÂNICOS E CULTURAIS.....	19
2.3	QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES	21
2.4	RELAÇÃO ÁGUA, PLANTA E SEMENTE	23
2.5	FISIOLOGIA DO ESTRESSE	25
2.6	DÉFICIT HÍDRICO.....	27
2.7	ACIBENZOLAR-S-METHYL NA DEFESA VEGETAL	29
2.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
3	CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM COM DISTINTAS CORES DE TEGUMENTOS EM RELAÇÃO A SUA COMPOSIÇÃO QUÍMICA EM DIFERENTES POTENCIAIS OSMÓTICOS	36
3.1	RESUMO	36
3.2	ABSTRACT.....	36
3.3	INTRODUÇÃO.....	37
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.6	CONCLUSÕES.....	49
3.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
4	TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM COM ACIBENZOLAR-S-METHYL NA INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO	52
4.1	RESUMO	52
4.2	ABSTRACT.....	52
4.3	INTRODUÇÃO.....	53
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56

4.6	CONCLUSÕES.....	67
4.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
5	ACIBENZOLAR-S-METHYL NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM DOS GRUPOS PRETOS E CARIOCA SUBMETIDOS AO DÉFICT HÍDRICO	70
5.1	RESUMO	70
5.2	ABSTRACT.....	70
5.3	INTRODUÇÃO.....	71
5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	72
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5.6	CONCLUSÕES.....	80
5.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
6	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	83

1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento do melhoramento genético e incremento tecnológico, avanços significativos são observados no cenário agrícola, tornando-o menos suscetível à influência de fatores exógenos. Entretanto, certos processos continuam a ser de suma importância, independente a tecnologia aplicada, como a relação hídrica entre as plantas e o meio de cultivo.

Observa-se esta interação desde o princípio do ciclo de manejo, pois quando em quantidade adequada, a água atua continuamente no processo de germinação das sementes como agente responsável pela reativação de reações metabólicas, de acordo com o padrão trifásico. A primeira fase, denominada embebição, inicia-se logo após a deposição das sementes no solo, por meio de um processo físico em que ocorre a entrada de água nos tecidos das sementes, independentemente a sua viabilidade. A segunda, caracteriza-se pela redução na taxa de absorção de água e reativação do metabolismo com significativo aumento na difusão de solutos para a região embrionária e, por fim, a terceira tem o princípio com a emissão da raiz primária, sendo que a escassez hídrica a partir deste ponto reduz de maneira drástica a taxa de emergência e sobrevivência de plântulas.

Neste sentido, a disponibilidade hídrica torna-se fator fundamental para proporcionar condições adequadas para que as sementes gerem plântulas normais e saudáveis, capazes de se estabelecer no ambiente de cultivo, culminando na formação de uma lavoura homogênea e com alto potencial produtivo. Entretanto, as plantas estão sujeitas a ação constante de fatores ambientais capazes de privar a deposição de água no meio de cultivo, resultando em déficit hídrico, uma situação em que ocorre uma elevação exponencial na concentração de radicais livres, gerando degradação por estresse oxidativo.

Esta classe de estresse reduz a estabilidade da membrana plasmática, aumentando sua sensibilidade, o que pode levar a morte celular. Para o combate destes agentes deletérios, as plantas ativam enzimas atuantes no mecanismo de defesa vegetal que possuem propriedades antioxidantes capazes de minimizar os efeitos indesejáveis. Estas enzimas são provenientes de reações estimuladas pela presença do ácido salicílico (AS), um hormônio vegetal presente no processo de resistência sistêmica adquirida (RSA).

Desta forma, a aplicação de compostos aptos para induzir a RSA em plantas torna-se uma alternativa ao controle e atenuação do déficit hídrico. Neste cenário, o acibenzolar-s-methyl (ASM) surge como uma molécula sintética capaz de elevar a atividade antioxidante de enzimas de resistência, uma vez que o ASM é um composto precursor da cadeia

de produção de AS. Sua aplicabilidade torna-se viável devido a versatilidade na forma de aplicação, além de ser um produto de rápida ação, degradação, baixa toxicidade e com registro para uma série de culturas, inclusive o feijão-comum.

O feijoeiro é uma planta com ampla adaptabilidade, cultivado em safras distintas (das águas, seca e terceira safra) e por grande parte do território nacional, uma vez que possui elevada demanda de mercado por compor a base alimentar brasileira. Entretanto, como qualquer cultura, o feijão-comum apresenta uma demanda hídrica mínima e que, quando não suprida, sofre degradação por estresse oxidativo, o que acarreta desregulação hormonal, alteração na taxa de transpiração e redução do potencial fotossintético, limitando o rendimento final.

Com base no exposto, o estudo da funcionalidade do ASM na atenuação do déficit hídrico na cultura do feijão torna-se viável e aplicável. Desta forma, o objetivo foi caracterizar a dinâmica de absorção de água em sementes de feijão-comum em relação a composição centesimal, mineral e bromatológica acondicionadas em ambientes com e sem restrição hídrica; além de avaliar o efeito de doses de ASM aplicadas no tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum submetidos ao estresse hídrico e foi avaliar a o efeito da aplicação de acibenzolar-s-methyl no tratamento de sementes sobre o desenvolvimento vegetativo e atividade fisiológica de plantas de feijão-comum.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ORIGEM, DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO FEIJÃO-COMUM

O gênero *Phaseolus* possui como centro de origem e domesticação primária o continente americano (VAVILOV, 1931, citado por DEBOUCK, 1986). A ampla área de ocorrência de populações não domesticadas é um dos fatores que possibilitaram o surgimento de diversas raças locais, abrangendo as formas selvagens e domesticadas (FREITAS, 2006).

Neste contexto, são identificadas cinco espécies domesticadas: *P. vulgaris*, *P. dumosus*, *P. coccineus*, *P. lunatus* e *P. acutifolius*. Dentre estas espécies, o *P. vulgaris* L., conhecido popularmente como feijão-comum é considerada a de maior importância econômica, uma vez que seus grãos são utilizados de forma direta na alimentação humana (BELLUCCI et al., 2014).

O feijão-comum caracteriza-se pela ampla distribuição de suas populações selvagens ao longo das Américas, desde o norte do México até o território argentino, em altitudes que variam de 500 a 2000 metros, não sendo encontradas naturalmente no Brasil (DEBOUCK, 1986). De acordo com a distribuição ecológica e geográfica foram caracterizados três *pools* gênicos: Andino, Mesoamericano e nordeste do Peru e Equador, sendo os dois primeiros aqueles que agrupam a maior parte da diversidade genética da espécie (BITOCCHI et al., 2013), determinada por análises da morfologia vegetal, teor proteico na semente, concentração e tipo de phaseolina, aloenzimas e marcadores moleculares (KWAK; GEPTS, 2009; SINGH et al., 1991; KOENIG; GEPTS, 1989; GEPTS et al., 1986).

O terceiro *pool* gênico foi descoberto em meados da década de 80 e classificado como um centro de origem distinto, uma vez que por meio de uma série de análises da proteína característica da cultura do feijão-comum, a phaseolina, observou-se que as populações encontradas neste *pool*, localizado no norte do Peru e Equador, apresentaram um novo gene proteico caracterizado como phaseolina tipo I, indicando ancestrais distintos das populações andinas e mesoamericanas (BITOCCHI et al., 2013).

Neste contexto, o feijão-comum tornou-se um produto amplamente difundido no território brasileiro. Responsáveis por mais de 65% da produção nacional, os estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás são destaque no cultivo, entretanto o volume produzido não atende à demanda do mercado interno, necessitado de uma contínua importação de países como a China, Argentina, Bolívia, Estados Unidos e Bélgica (CONAB, 2015).

Sua vasta utilização deve-se ao fato de ser um componente da base alimentar brasileira, devido a sua constante disponibilidade no mercado, principalmente para consumidores de baixa renda, aliado ao valor nutricional, uma vez que é fonte de proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas e micronutrientes (CIAT, 2015).

A fim de atender a demanda do consumidor, certos requisitos devem ser respeitados, como a preferência por feijão-comum novo, recém colhido e de coloração vívida com qualidade culinária (SILVA; WANDER, 2015). No cenário nacional, o consumo é composto por 20% de grão preto, 60% de grãos tipo cores (destaque para o carioca) e 18% macaçar (caupi) (CONAB, 2008).

Mesmo com tendência em redução do consumo, atribuída principalmente a mudança dos hábitos alimentares, o feijão lidera como uma das principais fontes proteicas na dieta alimentar brasileira, com consumo per capita estimado em 15 kg habitante⁻¹ ano⁻¹ (CONAB, 2015).

Parte da produção é destinada ao consumo das famílias produtoras, sobretudo em regiões com menores áreas de cultivo (SILVA; WANDER, 2015) e ainda, segundo os mesmos autores, a cadeia produtiva do feijão no Brasil apresenta baixo nível organizacional e algumas peculiaridades como a distribuição temporal da produção ao longo do ano, o que torna difícil determinar períodos de entressafra, fazendo reduzir a importância de estoques reguladores.

2.2 ASPECTOS BOTÂNICOS E CULTURAIIS

O feijoeiro é uma espécie classificada como anual diplóide (VIEIRA et al., 1999), fabácea, herbácea, com sistema radicular superficial e pivotante, cuja haste é angulosa e recoberta por pelos simples. É uma planta do tipo C3, portanto com mecanismo de carboxilação caracterizado pelo ciclo de Calvin.

As folhas são compostas e trifolioladas, e baseado em sua estrutura floral classifica-se como uma planta autógama, uma vez que o processo de polinização ocorre após a antese floral. Este fenômeno é atingido, aproximadamente, no momento em que 20 folhas trifolioladas encontram-se devidamente expandidas e fotossinteticamente ativas, sendo que a abertura obedece o sentido ascendente (CASTELLANE et al., 1988).

De acordo com Fancelli e Dourado Neto (2007), devido aos parâmetros culturais como o porte, distribuição de flores e vagens, grau e tipo de ramificação, necessidade

de tutoramento e desempenho em campo, os hábitos de crescimento são classificados e agrupados em quatro tipos.

- **Determinado:** caracterizado por inflorescência terminal na haste principal e nos ramos laterais. Possui caule resistente e pouco ramificado com número reduzido de entrenós, desta forma apresenta pequeno porte, variando de 25 a 50 cm. Caracteriza-se por um ciclo mais precoce com elevada uniformidade de maturação de vagens, favorecendo a operação de colheita;
- **Indeterminado arbustivo:** apresenta tendência de crescimento vertical da haste principal, quando apoiado em tutores, com ramos laterais curtos e numerosos. Devido ao hábito indeterminado o crescimento vegetativo é contínuo, mesmo após o início do florescimento. Plantas deste grupo possuem a capacidade de compensação quando há redução de estande;
- **Indeterminado prostrado:** destaca-se pela numerosa incidência de ramificações com guias alongadas e ramos laterais bem desenvolvidos. Apresenta grande potencial produtivo com capacidade de compensação de menores estandes, em contrapartida, apresentam desuniformidade de maturação de vagens, especificamente aquelas localizadas no terço inferior da planta;
- **Indeterminado trepador:** caracterizado pelo desenvolvimento elevado da haste principal, com muitos nós (cerca de 30) e poucos ramos laterais. Possui dominância apical predominante, necessitando tutores adequados para possibilitar a expressão do seu potencial produtivo.

De acordo com Filgueira (2006) a cultura possui ampla adaptação, atuando em uma faixa térmica de 18 a 30°C. Entretanto, constata-se que o termoperíodo ideal, sem o qual não é possível maximizar a produção, gira em torno de 29,5°C durante o dia e 21°C à noite.

Portanto, deve-se adequar o sistema de cultivo de forma que as características intrínsecas da planta sejam expressadas com todo o potencial. Desta forma, classifica-se o período de semeadura e cultivo em três safras distintas: a primeira denominada "das águas" (setembro a novembro); a segunda como a "da seca" ou safrinha (janeiro a março) - casos de chuvas insuficientes com necessidade de implementação de sistemas de irrigação; e a terceira

época ou outono/inverno (maio a julho) - conduzido em regiões onde o inverno possui características amenas, sem ocorrência de geadas (EMBRAPA, 2010).

Neste contexto, a implantação da cultura deve considerar o ambiente em que a lavoura irá se desenvolver. A profundidade de semeadura varia de 3 a 6 cm, de acordo com as características gerais do solo, sendo que a mesma atenção deve ser extrapolada para a densidade de sementes por área, com espaçamento de 0,40 a 0,60 m entre fileiras aliado a uma faixa de 10 a 15 plantas por metro (EMBRAPA, 2010; FANCELI; DOURADO NETO, 2007).

O processo de colheita deve ser realizado no período adequado, de modo que priorize a manutenção dos grãos, uma vez que realizada fora de época (muito após a maturação) ocorre perdas de produto devido a deiscência das vagens, fato que deprecia os grãos, muitas vezes pelo aumento excessivo de pragas e doenças.

2.3 QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

A agricultura caracteriza-se como um ramo de âmbito socioeconômico em constante evolução, porém com princípios estabelecidos, como os métodos de propagação de plantas. Sexuados ou não, estes procedimentos devem priorizar a manutenção de um alto padrão que possibilite a transmissão do potencial genético vegetal para as gerações futuras.

Neste cenário, as sementes atuam como o meio de propagação referente a mais de 70% dos vegetais catalogados e com uma série de vantagens em detrimento a propagação assexuada, como a possibilidade de variabilidade genética (natural ou programada) e formação de lavouras de forma rápida e homogênea (MARCOS FILHO, 2015).

Entretanto, para que a tecnologia e benefícios contidos nas sementes estejam disponíveis para o uso comum certos parâmetros devem ser aplicados na cadeia produtiva, visando a obtenção de um material de alta qualidade. Classifica-se como sementes de qualidade as que abrangem particularidades referentes as características varietais, fisiológicas, físicas e sanitárias (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Compreende-se por pureza varietal a manutenção da carga genética original do lote cultivado e preservação das características correspondentes às cultivares. Com o objetivo de conservar tais padrões, há necessidade de inspeções periódicas aos campos de produção de sementes, associado a semeadura em locais isolados em épocas adequadas e técnicas de limpeza, como o roguing (POSSENTINI, 2009).

O potencial fisiológico, por sua vez, refere-se a aptidão das sementes em gerar plântulas normais e vigorosas capazes de se estabelecerem em ambientes variados, sendo mensurado pela associação da taxa de germinação e o vigor. As avaliações referentes a

porcentagem de germinação são realizadas em laboratório, por meio do acondicionamento de sementes em condições adequadas de temperatura e umidade, com a finalidade de proporcionar um ambiente que permita a expressão do máximo potencial (MARCOS FILHO, 2015; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Ressalta-se que a porcentagem de emergência a campo habitualmente é inferior ao valor da germinação relatada em condições laboratoriais, devido a influência ambiental e, desta forma, se intensifica a necessidade de realização de testes de vigor complementares ao de germinação. Portanto, realiza-se testes como o de condutividade elétrica, frio, envelhecimento acelerado, comprimento e massa seca de raiz e parte aérea com o intuito de elevar a eficácia da mensuração da qualidade fisiológica das sementes (COSTA, 2009; CARVALHO et al., 2006).

Neste contexto, sementes classificadas como de alto vigor possuem a capacidade de realizar um fluxo intenso de matéria seca dos tecidos de reserva para o eixo embrionário, o que origina plântulas robustas devido ao maior acúmulo de fotoassimilados (NAKAGAWA, 1999).

Krzyzanowski e França Neto (2003) evidenciam que sementes com alto potencial fisiológico proporcionam benefícios diretos a lavouras comerciais, de forma a contribuir para o estabelecimento adequado da cultura e otimização do rendimento final. Em contrapartida, sementes com padrão inferior ao mínimo estipulado para comercialização (80%) propiciam redução considerável na taxa de germinação e na manifestação do vigor, com tendência a formação de plantas debilitadas.

A pureza física, por sua vez, abrange a proporção de cada componente presente em um lote de sementes. Contabiliza-se a porcentagem de sementes puras, silvestres, outras espécies e materiais inertes, sendo que a condição física destes é determinada pela interação entre as características tamanho, formato, cor e teor de umidade, além da presença ou não de danos mecânicos, por pragas e infecções por doenças (BRASIL, 2009; DESCHAMPS, 2005; POPINIGIS, 1985).

Peske, Lucca Filho e Barros (2006) definem certa influência destas características ao vigor das sementes, porém Marcos Filho e Novembre (2009) relatam que tais fatores são relativos, uma vez que podem não apresentar relação com o vigor, especialmente ao considerar a interferência genotípica.

Associado a estes padrões, a sanidade figura como fator determinante para o sucesso na implantação das culturas, uma vez que as sementes possuem a capacidade de atuar como vetores de patógenos. Neste contexto, a alta incidência de patógenos correlaciona-se com

um decréscimo significativo do potencial de germinação e no desenvolvimento inicial das plântulas, refletindo posteriormente no rendimento final da cultura (MACHADO, 1994; YORINORI, 1982).

Portanto, a determinação da qualidade sanitária visa mensurar o grau de ocorrência de organismos patogênicos que podem causar danos as sementes durante o armazenamento e/ou serem transmitidos no momento da semeadura. Por meio destas avaliações, torna-se possível evitar a entrada de micro-organismos fitopatogênicos, prevenindo a ocorrência de perdas consideráveis de produtividade (TALAMINI et al., 2011; ABREU, 2005).

2.4 RELAÇÃO ÁGUA, PLANTA E SEMENTE

A água é uma das substâncias conhecida, de maior relevância, indispensável para a vida e responsável pela distribuição vegetal ao longo da superfície terrestre. Possui propriedades que permitem ser classificada como um excelente solvente, capaz de ser transportada por todo organismo vegetal (TAIZ et al., 2017).

Neste contexto, a água movimenta-se por dois processos principais denominados difusão e fluxo de massa. O primeiro consiste no transporte por agitação térmica aleatória, resultante da colisão entre moléculas e troca de energia cinética, já, o segundo processo, corresponde ao movimento em conjunto de grupos moleculares em resposta a um gradiente de pressão (MARENCO; LOPES, 2005).

Esta substância atua como um importante reagente ou fonte para reações a nível celular como a fotólise da água, processo realizado no princípio da fotossíntese. Somado a este fator, corresponde a uma fonte de oxigênio molecular presente na atmosfera e um filtro para comprimento de ondas curtos e nocivos para o DNA. Neste cenário, figura como elemento indispensável para a manutenção da turgidez celular, procedimento essencial para morfologia de plantas herbáceas, aumento do volume celular, crescimento e desenvolvimento celular, abertura estomática e emissão de folhas e flores (TAIZ et al., 2017; KERBAUY, 2004).

Em relação a sua interação com as sementes, destaca-se primeiramente a manutenção da integridade do sistema de membranas, indispensável para preservação da vitalidade, o que possibilita a contínua realização de funções relacionadas a atividade e sobrevivência dos tecidos embrionários devido a regularização do fluxo de substância entre os compartimentos celulares. Além de atuar na ativação de reações metabólicas, a água consiste em um fator limitante no processo de germinação, uma vez que reflete na porcentagem,

velocidade e uniformidade de plântulas emergidas (BRADFORD, 1995; BEWLEY; BLACK, 1994).

Desta forma, conhecer o teor e o tipo de água nas sementes torna-se essencial para estabelecer a capacidade de retenção, bem como a relação com as substâncias armazenadas em seu organismo, em especial carboidratos, lipídios e proteínas (RAJJOU et al., 2012). De acordo com Marcos Filho (2015), a água presente nas sementes pode ser classificada em cinco tipos:

- Tipo 1: intensamente ligada a macromoléculas, o que a classifica como estrutural e sem propriedades de solvente;
- Tipo 2: capaz de formar uma fina camada na superfície, por meio de interações polares com macromoléculas, que a água desta classe passa a desempenhar funções de solvente;
- Tipo 3: corresponde a água congelável, presente a partir do momento em que a hidratação dos tecidos atinge 20%, e capaz de promover o umedecimento da superfície de macromoléculas, constatando o transporte de elétrons, intensificação da respiração e início dos processos metabólicos;
- Tipo 4: possui a capacidade de ocupar espaços intercapilares entre as macromoléculas, sem interagir com a superfície, sendo que nesta etapa ativa-se a síntese de aminoácidos e proteínas, além dos mecanismos de reparo do DNA;
- Tipo 5: ocorre quando a semente apresenta grau de umidade superior a 41%, possuindo características de uma solução diluída. Destaca-se que o processo de germinação se completa apenas na presença desta classe.

Denomina-se como padrão trifásico de hidratação o processo de absorção de água pelas sementes. A fase 1 corresponde a alta transferência de água do substrato para a semente, de acordo a diferença entre os potenciais hídricos, com duração de oito a dezesseis horas. A fase 2 caracteriza-se por decréscimo acentuado da velocidade de hidratação associado a intensificação da respiração celular e atividade do processo bioquímico preparatório. Por fim, define-se como fase 3 a retomada do crescimento do embrião e protrusão da raiz primária, o que torna visível o aumento do volume da semente após a absorção de água (RAJJOU et al., 2012; BEWLEY; BLACK, 1994).

2.5 FISIOLOGIA DO ESTRESSE

Em ambientes naturais ou de cultivo, as plantas estão constantemente sujeitas à ação de fatores estressantes provenientes do meio, sendo classificados como bióticos ou abióticos. Estes, por sua vez, são constatados em ambientes com condições inferiores a aquelas consideradas ótimas, sendo definidos como agentes exógenos com capacidade de influenciar negativamente o crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ et al., 2017).

O efeito deletério constatado em situações desfavoráveis é proveniente do estresse oxidativo causado pela ação de radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio (ERO's) (Tabela 2.5.1), que possuem a capacidade de ocasionar o desequilíbrio celular e graves danos a membrana plasmática, podendo culminar na morte da célula (LISAR et al., 2012). Os processos responsáveis pela produção de radicais livres ocorrem de maneira predominante nas mitocôndrias, citoplasma e membranas celulares, e são otimizados pela presença de íons de cobre e ferro (BARBOSA et al., 2010).

Dentre os locais de síntese, as mitocôndrias se destacam como as principais fontes produtoras de radicais livres durante o processamento de energia a partir da glicose e do oxigênio, devido a cadeia transportadora de elétrons. Aliadas às mitocôndrias, as enzimas NADPH oxidases ocupam uma parcela considerável na liberação de radicais livres, pois possuem a função de transferir elétrons através das membranas celulares (BARBOSA et al., 2010). Independentemente ao sítio de produção, a liberação do radical livre se dá pela instabilidade de alguns elétrons durante o processo de transferência.

A quantidade exacerbada de radicais livres atuantes no organismo vegetal é combatida pela presença de agentes antioxidantes, compreendidos por substâncias com o potencial de regenerar o substrato atacado ou prevenir de forma significativa o processo de oxidação (HALLIWELL et al., 2000). Os agentes de combate ao estresse oxidativo são representados por enzimas antioxidantes atuantes no mecanismo de defesa vegetal, com destaque para a superóxido desmutase (SOD), a catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (MUNNÉ-BOSH et al., 2013).

Tabela 2.5.1. Representação química, características e ação das principais espécies reativas de oxigênio atuantes no metabolismo vegetal.

Espécies	Representação Química	Característica	Ação
Superóxido	$O_2^{\cdot-}$	Indução de dano celular	Predomina como agente redutor
Hidroxila	HO^{\cdot}	Altamente reativo	DNA e composição centesimal
Peróxido de Hidrogênio	H_2O_2	Não possui elétrons desemparelhados	Proteínas e lipídios
Oxigênio Singleto	1O_2	Molécula de oxigênio excitada	Mutação de DNA

Adaptado de Oliveira e Schoffen (2010).

A enzima superóxido desmutase atua sobre o radical superóxido sintetizado em condições de estresse, transformando-o em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um produto estável dissolvido no processo de desintoxicação pelas enzimas catalases e peroxidases (CARNEIRO et al., 2011). A CAT figura como uma das principais enzimas responsáveis pela eliminação de moléculas de H_2O_2 por meio da conversão destas em H_2O e O_2 em duas etapas (GILL; TUJELA, 2010).

A APX, por sua vez, relaciona-se com o balanço de H_2O_2 nos cloroplastos, além de atuar em conjunto com a catalase no procedimento de detoxificação de ERO's (CARVALHO et al. 2014; MITTLER et al., 2004). Somado a esta função, as ascorbato peroxidases atuam em diversas etapas de processos da fisiologia vegetal como no metabolismo de auxinas, defesa contra patógenos, síntese da suberina, alongamento celular e no combate a estresses abióticos e bióticos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

Deuner et al. (2011), ao avaliarem a viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de *Vigna unguiculata* (L) Walp. submetidos ao estresse salino, observaram o incremento na peroxidação de lipídios por meio do aumento da concentração de ERO's. Entretanto, os mesmos autores verificaram que certas enzimas possuem uma atividade antioxidante capaz de atuar de maneira eficiente na eliminação de radicais livres.

Dorneles et al. (2017) ao estudarem o cultivo de plântulas de *Phaseolus vulgaris* L. sob concentrações crescentes de zinco, constataram que as enzimas SOD, CAT e APX atuaram sobre as espécies reativas de oxigênio, porém quando em concentrações elevadas estas não são suficientes para combater os radicais livres de maneira eficiente.

Ressalta-se que a intensidade do estresse é correlacionada com a tolerância das plantas às flutuações ambientais e suas possíveis respostas fisiológicas, portanto um ajuste metabólico com finalidade de atingir novamente um estado de equilíbrio se torna necessário. Primeiramente, os vegetais iniciam um processo de redistribuição das fontes energéticas responsáveis pelo crescimento, o que resulta em inibição do alongamento (aumento do porte), alteração na diferenciação celular e estímulo do crescimento vegetativo lateral (POTTERS et al., 2007).

2.6 DÉFICIT HÍDRICO

A água é um dos elementos fundamentais relacionados ao crescimento e desenvolvimento adequado de plantas. Sua necessidade e, conseqüentemente, utilização se estende por todo o ciclo das culturas, sendo essencial desde o momento da embebição no processo de germinação até o ponto de colheita. A dinâmica entre a água e o metabolismo vegetal está estritamente correlacionada com a disponibilidade hídrica, uma vez que toda cultura consome uma quantidade ideal para ser apta a completar seu ciclo, sendo que o excesso ou a falta refletem no rendimento final.

No cenário agrícola atual, o déficit hídrico vêm se tornando evidente em algumas regiões devido à oscilação da disponibilidade hídrica associada a altas temperaturas, o que gera ambientes com potencial estressante. Em relação ao metabolismo vegetal, a restrição hídrica influencia diversos processos fisiológicos como a produção de ácido abscísico, abscisão foliar, a redução da taxa de transpiração e o fornecimento de CO₂ para a execução da fotossíntese (ASHRAF; HARRIS, 2013; MORAIS et al., 2003).

Nota-se que quando submetidos ao déficit hídrico, as plantas estão sujeitas a redução da concentração intercelular de CO₂ devido ao mecanismo de abertura dos estômatos, o que acarreta o declínio da condutância estomática, fator essencial na manutenção da turgescência celular em resposta a redução do potencial hídrico. Em contrapartida, o ato do fechamento estomático tem o intuito de proteger a planta em relação a perda de água e também restringir a difusão do CO₂ atmosférico, o que indiretamente reduz de maneira drástica o rendimento fotossintético (MATTA, 2003).

O decréscimo da condutância estomática potencializa diversas interações entre a planta e o ambiente, pois os estômatos são células especializadas que atuam no controle do vapor de água associado ao balanço energético com o meio de cultivo, com ressalva para a influência direta no calor sensível atuante na superfície vegetal (GONÇALVES, 2013). Neste contexto, as plantas necessitam de mecanismos que contribuem para a tolerância à desidratação, podendo-se destacar a concentração de ácido abscísico, a regulação osmótica foliar, os teores de clorofila, açúcares solúveis e prolina, além da ação de enzimas de combate ao estresse oxidativo (LUO, 2010).

Nascimento et al. (2011), ao estudarem a tolerância de genótipos de *Vigna unguiculata* ao déficit hídrico, observaram que plantas submetidas a estas condições reduziram 72% a taxa de condutância estomática, 62% o potencial de água nas folhas e 11,7% da temperatura foliar, o que acarretou um decréscimo de 60% na produção de grãos.

Os efeitos demonstrados pelos vegetais vão além das alterações observadas no metabolismo endógeno, uma vez que a deficiência hídrica exerce influência sobre o crescimento, desenvolvimento e escala fenológica. Quando em estresse, observa-se redução da longevidade do ciclo de vida vegetal, pois ao priorizar a sobrevivência em condições desfavoráveis as plantas aumentam a plasticidade fenotípica e reduzem o período vegetativo por meio da emissão antecipada dos botões florais, sendo esta a característica de maior relevância (TAIZ et al., 2017).

Vale et al. (2012), ao avaliarem a tolerância de diversos genótipos de feijão-comum ao estresse hídrico, constataram que existem genótipos adaptáveis a esta situação, sendo que aqueles com maior sensibilidade reduzem o ciclo vegetativo e emitem de forma prematura os botões florais.

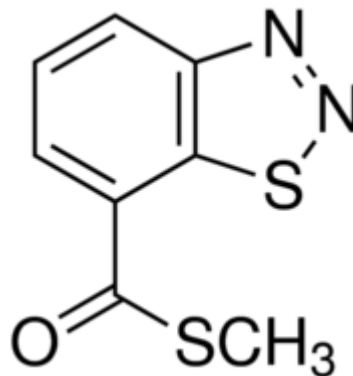
Guimarães et al. (2006), ao estimarem a adaptação do feijoeiro comum a seca, verificaram que o déficit hídrico proporciona redução no rendimento final, porém há diferença na resposta entre os genótipos. Guimarães et al. (2011), ao estudarem o desenvolvimento e os componentes de produção de genótipos de feijoeiro comum submetidos a deficiência hídrica, observaram diferença tanto no crescimento vegetativo quanto nos estádios reprodutivos, sendo que o número de vagens mostrou-se a variável mais sensível ao ambiente desfavorável.

2.7 ACIBENZOLAR-S-METHYL NA DEFESA VEGETAL

Quando expostas constantemente à ação do meio em que vivem, os vegetais possuem a necessidade de serem capazes de sobreviver aos diversos intempéries, sendo a aplicação de compostos (orgânicos ou não) que possuem a aptidão de induzir a resistência de plantas uma maneira promissora (BOSTOCK et al., 2001; OOSTENDORP et al., 2001).

Neste contexto, o acibenzolar-s-methyl (ASM) (Figura 2.7.1) atua como um composto químico sintético proveniente do benzoatiadiazole (BTH), apropriado para atuar no metabolismo de defesa vegetal por ser classificado como um ativador de resistência sistêmica adquirida (RSA). Compreende-se por RSA como a ativação de um conjunto de respostas de resistência das plantas após exposição precedente à ação de um agente deletério (biótico ou abiótico) (HAMMERSCHMIDT et al., 2001; TUZUN, 2001),

Figura 2.7.1. Representação gráfica da molécula sintética de acibenzolar-s-methyl (ASM).



Fonte: Merck, 2018.

A aplicabilidade do ASM ocorre por este ser um precursor da cadeia de produção do ácido salicílico (AS), responsável pela indução da expressão de substâncias atuantes no processo de RSA (PASCHOLATI et al., 2010). Assim, a resposta proveniente dos vegetais caracteriza-se como uma cadeia de estímulos bioquímicos contra agentes oxidantes produzidos em condições ambientais desfavoráveis. Os agentes oxidantes são fruto do processo químico de redução parcial do oxigênio, sendo estes denominados de ERO's, destacando-se o radical hidroxila (OH), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o oxigênio singlete (¹O₂) (RESENDE et al., 2003; MITTLER, 2002).

Em um cenário de alta concentração de ERO's, ocorre a ativação de mecanismos antioxidantes com função de produzir enzimas de defesa de cunho antioxidativo, como a catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase (FELIPE et al., 2009; MITTLER, 2002). Portanto, o ASM é estudado e utilizado por ser capaz de elevar a atividade de enzimas

participantes da defesa vegetal, além de ativar genes correlacionadas a RSA, mediados pelo AS (PASCHOLATI et al., 2010; OOSTENDORP et al., 2001).

No Brasil, as principais formulações de ASM disponíveis são os produtos comerciais Bion® (Syngenta, Suíça) e Actigard® (Syngenta, EUA), sendo que estes agem na ativação da resistência de forma sistêmica e podem ser aplicados tanto via pulverização foliar quanto via solo, e relatos da literatura sugerem uma rápida ação e degradação da molécula sintética. Vale a ressalva de que os produtos possuem registro para uma série de culturas, inclusive o feijão (MINISTÉRIO, 2008).

Alguns estudos demonstram a eficiência do ASM no combate a doenças de importância econômica (KUHN, 2007; CAVALCANTI; RESENDE, 2004), entretanto pouco se sabe sobre a eficiência contra agentes estressantes abióticos, como o déficit hídrico, o que torna necessário a realização de trabalhos que abrangem esta carência.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Â. F. B. **Produção de sementes**. In: ABREU, Â. De F. B.; BIAVA, M. (Ed.). **Cultivo do feijão da primeira e segunda safra na Região Sul de Minas Gerais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2005.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v.51, n.2, p.163-190, 2013.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. de C. G.; PAULA, S. O. de; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BELLUCCI, E.; BITOCCHI, E.; RAU, D.; RODRIGUEZ, M.; BIAGETTI, E.; GIARDINI, A.; ATTENE, G.; NANNI, L., PAPA, R. Genomics of origin, domestication and evolution of *Phaseolus vulgaris*. In: **Genomics of plant genetic resources**. Springer Netherlands, 2014. p. 483-507.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BITOCCHI, E.; BELLUCCI, E.; GIARDINI, A.; RAU, D.; RODRIGUEZ, M.; BIAGETTI, E.; SANTILOCCHI, R.; ZEULI, P. S.; GIOIA, T.; LOGOZZO, G.; ATTENE, G.; NANNI, L.; PAPA, R. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. **New Phytologist Trust**. v. 197, n. 1, p. 300–313, 2013.

BOSTOCK, R.M.; KARBAN, R.; THALER, J.S; WEYMAN, P. D.; GILCHRIST, D. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n. 1, p. 103-111, 2001.

BRADFORD, K.J. **Water relations analysis of seed germination**. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Decker, 1995. p. 351 – 396.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de Sementes**. Brasília - DF: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 365p. 2009.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 752-761, 2011.

CARVALHO, F. E. L.; RIBEIRO, C. W.; MARTINS, M. O.; BONIFACIO, A.; STAAS, C. C.; ANDRADE, C. M. B.; CERQUEIRA, J. V.; MARGIS-PINHEIRO, M.; SILVEIRA, J. A. G. Cytosolic APX knockdown rice plants sustain photosynthesis by regulation of protein expression related to photochemistry, Calvin cycle and photorespiration. **Physiologia plantarum**, v. 150, n. 4, p. 632-645, 2014.

CARVALHO, M. L. M.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. Controle e qualidade na produção de sementes. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 232, p. 52-58, 2006.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CASTELLANE, P.D.; VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.): Cultivo e produção de sementes**. Jaboticabal. FUNEP/FCAV-UNESP, p. 60, 1988.

CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-s-metil na indução de resistência à murcha-de-verticillium em cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-71, 2004.

CIAT - International Center for Tropical Agriculture. **About Beans**. Colômbia, 2015. Disponível em: <<https://ciat.cgiar.org/crops/bean>>. Acesso em 25 jun. 2017

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, primeiro levantamento, outubro 2015**. Brasília, 2015. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_10_28_17_24_01_boletim_graos_outubro_2015.pdf>. Acesso em 25 jun. 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Oferta e demanda brasileira**, jan., 2008. (Indicadores Agropecuários, 301). Disponível em http://www.conab.gov.br/conabweb/download/indicadores/0301_oferta_e_de_manda_brasileira.pdf. Acesso em 25 jun. 2018.

COSTA, C. J. **A importância do controle de qualidade de sementes**. 2009. Disponível em:<<http://www.agroredenoticias.com.br/textos.aspx?x15mQxax4+FksFe0FwRTcp>>. Acesso em 4 de Abril de 2018.

DEBOUCK, D.G. Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas: three centers. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v. 67, p. 2-8, 1986.

DESCHAMPS, L. H. **Qualidade da sementes de soja e de seu repasse beneficiados em mesa de gravidade**. 2005. 46f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Sementes) - UFPEL, Pelotas, RS. 2005.

DEUNER, C.; DE SOUZA MAIA, M.; DEUNER, S.; DA SILVA ALMEIDA, A.; MENEGHELLO, G. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 711-720, 2011.

DORNELES, A. O. S.; PEREIRA, A. S.; MENEGATTI, R. D.; DE OLIVEIRA, L. O.; DUTRA, D. B.; DEUNER, S. Plântulas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas sob concentrações crescentes de zinco. **Revista Científica Rural**, v. 19, n. 1, p. 60-69, 2017.

EMABRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Circular Técnica 87**. 2010.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de Feijão**. ESALQ/USP. 2007, 386p.

FELIPE, R. T. A.; OLIVEIRA, J.A. de; LEÃO, G. A. Potencial de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. **Revista Árvore**, v. 33, p. 245-254, 2009.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Universidade Federal de Viçosa: Empresa Júnior de Agronomia, 2006, 412p.

FREITAS, F. O. Evidências genético-arqueológicas sobre a origem do feijão comum no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 7, p. 1199-1203, 2006.

GEPTS P.; OSBORN, T.C.; RASHKA, K.; BLISS, F. A. Phaseolin–protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. **Economic Botany**, v. 40, n. 4, p. 451–468, 1986.

GILL, S. S.; TUJELA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.9, n.3, p. 307-375, 2010,

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

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; BRUNINI, O. Adaptação do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) à seca. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 1, p. 70-75, 2006.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; DEL PELOSIO, M. J.; OLIVEIRA, J. P. Genótipos de feijoeiro comum sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 15, n. 7, 2011.

HALLIWELL, B.; CLEMENT, M. V.; LONG, L. H. Hydrogen peroxide in the human body. **Febs Letters**, v. 486, n. 1, p. 10-13, 2000.

- HAMMERSCHIMIDT, R.; MÉTRAUX, J. P.; VAN LOON, L.C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n.1, p.1-6, 2001.
- KARUPPANAPANDIAN, Thirupathi et al. 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 2, p. 168-177, 2011.
- KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004, 452p.
- KOENIG, R.; GEPTS, P. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 78, n. 6, p. 809-817, 1989.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J de B. Agregando valor à semente de soja. **Seed News**, n. 5, 2003. Disponível em: <<http://www.seednews.inf.br/portugues/seed75/artigocapa75.shtml>>. Acesso em: 4 de Abril de 2018.
- KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 5, p. 979-992, 2009.
- LISAR, S.Y.S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M.M.; RAHMAN, I.M.M. **Water stress in plants: causes, effects and response**. In RAHMAN, I.M.M., Water Stress, Rijeka: INTECH, p.1-14, 2012.
- LUO, L. J. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 13, p. 3509-3517, 2010.
- MACHADO, J. C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. In: LUZ, W. C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, p. 229-263. 1994.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.
- MARCOS FILHO, J.; NOVEMBRE, A. D. L. C. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de hortaliças**. In: NASCIMENTO, W. M. (Ed). Tecnologia de sementes de hortaliças. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 185-246p. 2009.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. 2005. **Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. UFV: Viçosa, Brasil, 2005, 451p.

MATTA, F.M. DA; CHAVES, A.R.M.; PINHEIRO, H.A.; DUCATTI, C.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, v.164, n.1, p. 111-117, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Brasil: MAPA, 2008.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science**, v. 9, n. 10, p. 490-498, 2004.

MORAIS, H. MARUR, C.J.; CARAMORI, P.H.; RIBEIRO, A.M.A.; GOMES, J.C Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guando e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.10, p.35-45, 2003.

MUNNÉ-BOSH, S.; QUEVAL, L.; FOYER, C.H. The impact of global change factors on redox signaling underpinning stress tolerance. **Plant Physiology**, v.161, n.1, p. 5-19, 2013.

NAKAGAWA, J. **Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas**. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J de B. (Ed). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p. 201-204, 1999.

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. D. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.

PASCHOLATI, S.F; BLUMER, S.; REZENDE, D.C.; BRAND, S.C. Indução de resistência novos conceitos e aplicações. **Anais do X Simpósio de Controle de Doenças em Plantas e V Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas**. Lavras, MG, 2010.

PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A.; BARROS, A. C. S. A. **Produção de sementes** In: Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. 2 ed. 12-93p. 2006.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2 ed. Brasília: AGIPLAN, 289p. 1985.

POSSENTINI, J. C. **Produção de Sementes**. 2009. Disponível em: <<http://web.dv.utfpr.edu.br/www.dv/professores/arquivos/Jean%20Carlos%20Possenti/PS35H%20UNID%204-4.1pdf>> . Acesso em 4 de Abril de 2018.

POTTERS, G.; PASTERNAK, T. P.; GUISEZ, Y; PALME, K. J; JANSEN, M. A. K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 98-105, 2007.

RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual review of plant biology**, v. 63, p. 507-533, 2012.

- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, 2003.
- SILVA, O. F.; WANDER, A. E. Viabilidade econômica da cultivar de feijão-comum BRS Estilo. **Revista Brasileira de Desenvolvimento Regional**, v. 3, n. 1, p. 223-242, 2015.
- SINGH, S.P.; GUTIERREZ, J.A.; MOLINA, A.; URREA, C.; GEPTS, P. Genetic diversity in cultivated common bean. II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. **Crop Science**. v.31, p. 23-29, 1991.
- TAIZ, L.; ZEIGUER, E.; MOLLER, M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
- TALAMINI, V; ALMEIDA, N. Á.; LIMA, N. R. S.; SILVA, A. M. F.; CARVALHO, H. W. L. de; SOUSA, R. C. de. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol introduzidas para cultivo em Sergipe. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Aracajú - SE, n. 67, dezembro, 2011. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento). Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2011/bp_67.pdf>. Acesso em: 04 de Abril de 2018.
- TUZUN, S. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**,. V.107, p.85-93, 2001.
- VALE, N. M. do; BARILI, L. D.; ROZZETO, D. S. COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; KOOP, M. M. Avaliação para tolerância ao estresse hídrico em feijão. **Biotemas**, v. 25, n. 3, p. 135-144, 2012.
- YORINORI, J. T. Doenças da soja causadas por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 94, p. 40-46, 1982.

3 ARTIGO A - CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM COM DISTINTAS CORES DE TEGUMENTOS EM RELAÇÃO A SUA COMPOSIÇÃO QUÍMICA EM DIFERENTES POTENCIAIS OSMÓTICOS

3.1 RESUMO

A embebição consiste no processo de absorção de água pelas sementes de plantas cultivadas e pode ser influenciada por uma série de fatores, como a concentração de água presente no meio e sua composição química. Definir o tempo que as sementes necessitam para germinar torna-se fundamental para a tomada de decisão no momento da sementeira, portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar a embebição de sementes de feijão-comum com diferentes cores de tegumentos em diferentes potenciais osmóticos, bem como verificar sua relação com a composição química. Este trabalho foi realizado em laboratório, utilizando sementes de genótipos de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru e IPR Galha) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió), cultivadas em casa de vegetação. As sementes foram acondicionadas em dois ambientes, sem e com (-0,4 MPa) restrição hídrica, tendo a sua massa aferida após 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 12; 15; 24; 30; 36; 48 e 72 horas. Por fim, foi avaliado a composição bromatológica, centesimal e mineral de todos os genótipos. Para as horas de embebição foi aplicada análise de regressão até o polinômio de terceiro grau e, posteriormente, realizou-se a correlação de Pearson com as características minerais, centesimais e bromatológicas em cada tempo e condição hídrica. Verificou-se que sementes de feijão-comum acondicionadas em ambiente sem restrição hídrica necessitam de 36 horas para emitirem os primórdios radiculares, enquanto aquelas em ambiente com restrição hídrica (-0,4 MPa), precisam de 72 horas. Foi possível verificar que não houve diferença no processo de embebição de sementes para os genótipos de feijão-comum dos grupos preto e carioca, independente ao ambiente de acondicionamento. Entretanto, quando se altera o ambiente de acondicionamento das sementes, ocorre oscilação na correlação dos componentes químicos e a absorção de água, sendo que a hemicelulose, o cálcio, o manganês e o cobre apresentaram correlação positiva com a absorção de água nas primeiras horas do processo. Em contrapartida, a celulose apresentou correlação negativa com a absorção de água nas primeiras horas de embebição e, com restrição hídrica estabelecida, a presença de proteína aumentou sua influência neste processo.

Palavras-chave: Absorção hídrica. Germinação. *Phaseolus vulgaris* L.

3.2 ABSTRACT

Soaking is the process of water absorption by the seeds of cultivated plants and can be influenced by a number of factors, such as the concentration of water present in the medium and its chemical composition. Defining the time that the seeds need to germinate is essential for decision making at the moment of sowing, therefore the objective of this work was to evaluate the imbibition of common bean seeds with different tegument colors in different osmotic potentials, as well as verify its relationship with the chemical composition. This work was carried out in the laboratory, using seeds of common bean genotypes of the black (IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru and IPR Galha) and carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais and IPR Curió) groups, grown in a greenhouse. The seeds were stored in two environments, without and

with (-0.4 MPa) water restriction, having their mass measured after 0.5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 12; 15; 24; 30; 36; 48 and 72 hours. Finally, the bromatological, centesimal and mineral composition of all genotypes was evaluated. For the imbibition hours, regression analysis up to the third degree polynomial was applied and, subsequently, Pearson's correlation with mineral, centesimal and bromatological characteristics was performed in each time and water condition. It was found that common bean seeds stored in an environment without water restriction need 36 hours to emit the roots, while those in an environment with water restriction (-0.4 MPa), need 72 hours. It was possible to verify that there was no difference in the process of soaking seeds for the common bean genotypes of the black and carioca groups, regardless of the packaging environment. However, when the seed packaging environment changes, there is an oscillation in the correlation of chemical components and water absorption, with hemicellulose, calcium, manganese and copper showing a positive correlation with water absorption in the first hours of the season. process. In contrast, cellulose showed a negative correlation with water absorption in the first hours of imbibition and, with established water restriction, the presence of protein increased its influence in this process.

Keywords: Water absorption. Germination. *Phaseolus vulgaris* L.

3.3 INTRODUÇÃO

A cadeia de produção agrícola está sujeita à ação de diversos fatores capazes de limitar ou potencializar o rendimento final da cultura, destacando-se a qualidade dos lotes de sementes, responsáveis por transmitir a tecnologia contida no material genético. Neste contexto, estudar o processo de produção de sementes torna-se essencial para obter níveis satisfatórios de produção (MARCOS FILHO, 2015).

O potencial genético e tecnológico das sementes depende de fatores que abrangem desde sua formação até o momento da semeadura, sendo a embebição de água uma das etapas fundamentais. Este procedimento é caracterizado pela reidratação dos tecidos e intensificação das atividades metabólicas, o que torna a relação água/semente vital para a formação e desenvolvimento de plântulas saudáveis, sendo que este processo é caracterizado por um padrão trifásico (ALBURQUERQUE et al., 2000; BEWLEY; BLACK, 1994).

A presença da quantidade adequada de água no ambiente de cultivo proporciona o aumento do volume das sementes devido à manifestação das estruturas internas, além da ativação de rotas fisiológicas essenciais, o que possibilita o rompimento do tegumento e, conseqüentemente, a germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; BRADFORD, 1995). Em condições de déficit hídrico, compromete-se todo o processo natural de formação de plântulas, pois há etapas em que a interrupção no processo de absorção de água causa danos irreversíveis e, muitas vezes, letais. A severidade dos danos causados pela escassez está

correlacionada com a presença de radicais livres, responsáveis pela deterioração exponencial do metabolismo vegetal (MUNNÉ-BOSH et al., 2013; LISAR et al., 2012).

Ressalta-se que a taxa de absorção hídrica pode variar conforme o potencial osmótico do meio e a composição química das sementes, uma vez que cada componente possui um grau de afinidade com a água, como a elevada compatibilidade com os compostos proteicos (FONSECA et al., 2006). Neste contexto, o feijão-comum figura como um produto de importância cultural, seja pelo consumo de diversas classes sociais ou pela possibilidade de produção em todas as épocas do ano (CONAB, 2017).

O feijoeiro caracteriza-se por possuir sementes de ampla composição química, com destaque para o elevado teor proteico. Entretanto, a presença de uma quantidade considerável de proteína não garante uma maior velocidade de embebição, uma vez que este fenômeno pode ser influenciado pela interação de compostos como a lignina, celulose e hemicelulose. Fadel et al. (2003), ao avaliarem a relação entre a composição bromatológica e diferentes proporções de água e ureia na cultura do arroz, observaram que, com a adição de 30% de água no substrato, ocorre uma elevação nos teores médios de proteína bruta e, em contrapartida, redução considerável nos teores de fibras e hemicelulose.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a embebição de sementes de feijão-comum com diferentes cores de tegumentos em diferentes potenciais osmóticos, bem como verificar sua relação com a composição química.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, localizado na Universidade Estadual de Londrina, utilizando sementes de genótipos de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Uirapuru e IPR Gralha) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) cultivados em casa de vegetação. A umidade inicial de cada lote foi obtida por meio da secagem em estufa à 105° C de quatro repetições de 10 sementes (BRASIL, 2009) e somado a este fator mensurou-se a massa de mil sementes (MMS).

Para determinação da curva de embebição, realizou a avaliação com 10 repetições por genótipo, sendo que as sementes de cada material foram acondicionadas em câmaras de umedecimento com diferentes potenciais osmóticos, sem e com restrição hídrica, totalizando um montante de 120 unidades experimentais.

As câmaras de umedecimento foram confeccionadas pela adição de duas folhas de papel mata-borrão por recipiente tipo gerbox[®], sendo que para os tratamentos sem restrição hídrica as folhas foram umedecidas com água destilada com volume igual a 2,5 vezes

a massa do papel seco. Para os tratamentos com restrição hídrica aplicou-se uma solução indutora do estresse composta pela adição de polietilenoglicol (PEG 6000) diluído em um volume de água destilada igual a 2,5 vezes a massa do papel seco, resultando em um ambiente com potencial osmótico igual a -0,4 MPa (BRACCINI et al., 1998).

Após o preparo, as unidades experimentais foram acondicionadas em câmara de germinação à 25° C, com fotoperíodo de 12 horas (BRASIL, 2009). A partir deste ponto, mensurou-se as curvas de embebição por meio da pesagem periódica das sementes até o rompimento do tegumento e protrusão da radícula. As unidades experimentais sem restrição hídrica foram pesadas após 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 12; 15; 24; 30; 36 horas, já para aquelas com restrição, adicionou-se dois tempos, 48 e 72 horas, sendo o acúmulo de água aferido por meio do aumento porcentual de massa em relação ao tempo zero, para ambas as condições.

Definidas e ajustadas as curvas de embebição, realizou-se as caracterizações mineral, centesimal e bromatológica com o intuito de verificar o efeito de cada componente sobre o processo de absorção de água.

A determinação dos minerais foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Malavolta et al. (1989), a qual quantifica os teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). Para as variáveis bromatológica, determinou-se, por meio da metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002), os teores de lignina, fibra em detergente neutro e ácido, celulose, hemicelulose.

Para a composição centesimal, o teor de proteínas foi mensurado pelo método de Kjeldahl, sendo que para a conversão da porcentagem de nitrogênio em proteínas, utilizou-se o fator 6,25, de acordo com o método 920.152 da AOAC (2012). Determinou-se os teores de lipídios de acordo com o método 948.22 da AOAC (2012). As cinzas foram determinadas por incineração da amostra em mufla, seguindo o método 940.26 da AOAC (2012). Por fim, obteve-se o conteúdo de carboidratos por diferença em relação aos teores de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas.

Para as horas de embebição foi aplicado a análise de regressão até o polinômio de terceiro grau e, posteriormente, realizou-se a correlação de Pearson com as características minerais, centesimais e bromatológicas em cada tempo e condição hídrica.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

São diversos os processos metabólicos vegetais em que constata-se a presença de água, sendo a germinação de sementes um dos mais relevantes. Este processo consiste em uma série de eventos fisiológicos que culminam na emissão dos primórdios vegetais e possuem como ponto de partida a absorção de água.

Esta etapa é denominada de embebição e corresponde à captação de um montante de água necessário para reiniciar as atividades metabólicas e mantê-las estáveis. Neste contexto, a hidratação de sementes sucede de forma gradativa, tendo início na superfície até atingir o interior como um todo, resultando em um aumento expressivo de seu volume (BAYRAM et al., 2004).

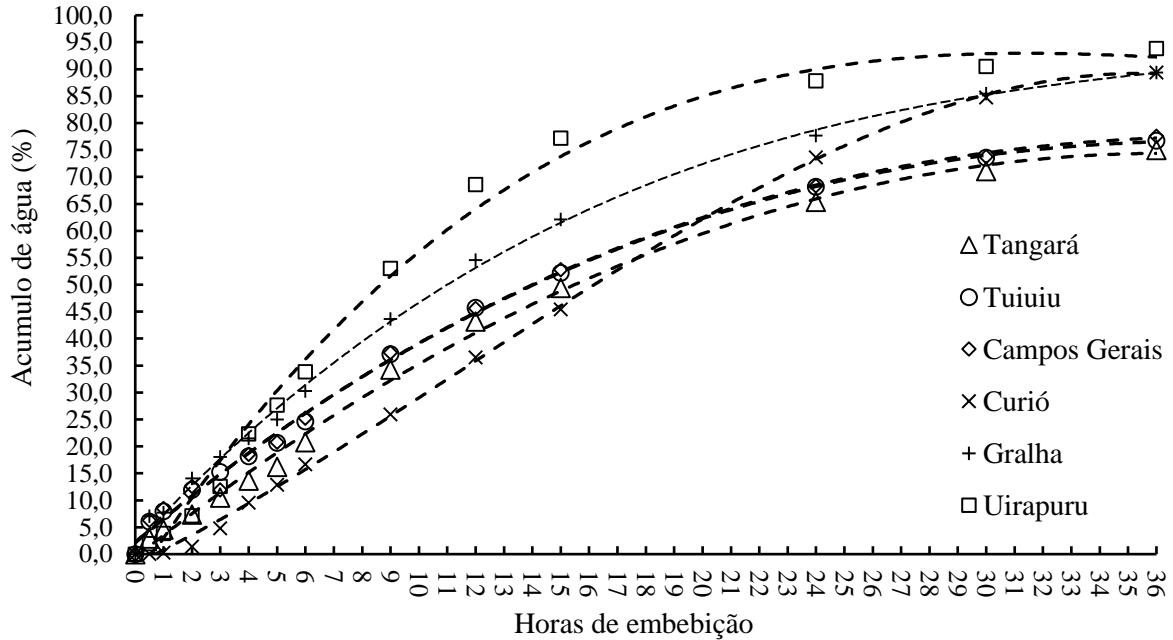
Este procedimento pode ser observado e confirmado pelo padrão trifásico de hidratação, o qual pode oscilar conforme as condições em que as sementes estão acondicionadas, bem como a sua composição química (MARCOS FILHO, 2015). Powell et al. (1986) ao avaliarem o processo de movimento de água em sementes de feijão observaram que a presença de alguns componentes pode influenciar a absorção hídrica, sendo um exemplo a pigmentação encontrada na testa.

Em relação a disponibilidade de água, constata-se que em ambientes sem restrição hídrica o processo de embebição necessita de menos tempo para ser concluído, independente ao genótipo avaliado, como verificado para as cultivares de feijão-comum de diferentes grupos (Figura 3.5.1).

Devido ao menor tempo necessário para os genótipos atingirem a protrusão radicular, a distinção das três fases características do processo de embebição torna-se tênue, sendo que a fase I apresentou duração de seis horas, enquanto a fase II encerrou-se após 24 horas e, por fim, a fase III perdurou até as 36 horas. De acordo com a Figura 3.5.1, a maior taxa de acúmulo de água ocorreu nas primeiras seis horas de absorção, variando de 16,67 a 33,84%, o que caracteriza a primeira etapa do padrão trifásico de hidratação.

Com o decorrer do processo, constatou-se que a protrusão dos primórdios vegetais ocorre após um acúmulo hídrico elevado, de no mínimo 76,71%, valor observado para a cultivar IPR Tangará. Ressalta-se que o acúmulo mínimo necessário para a emissão dos primórdios não se relaciona com os grupos (preto e carioca) em específico e sim com as características intrínsecas de cada material.

Figura 3.5.1. Curvas de embebição de água de sementes de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiu, IPR Galha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionadas em ambiente não estressante.

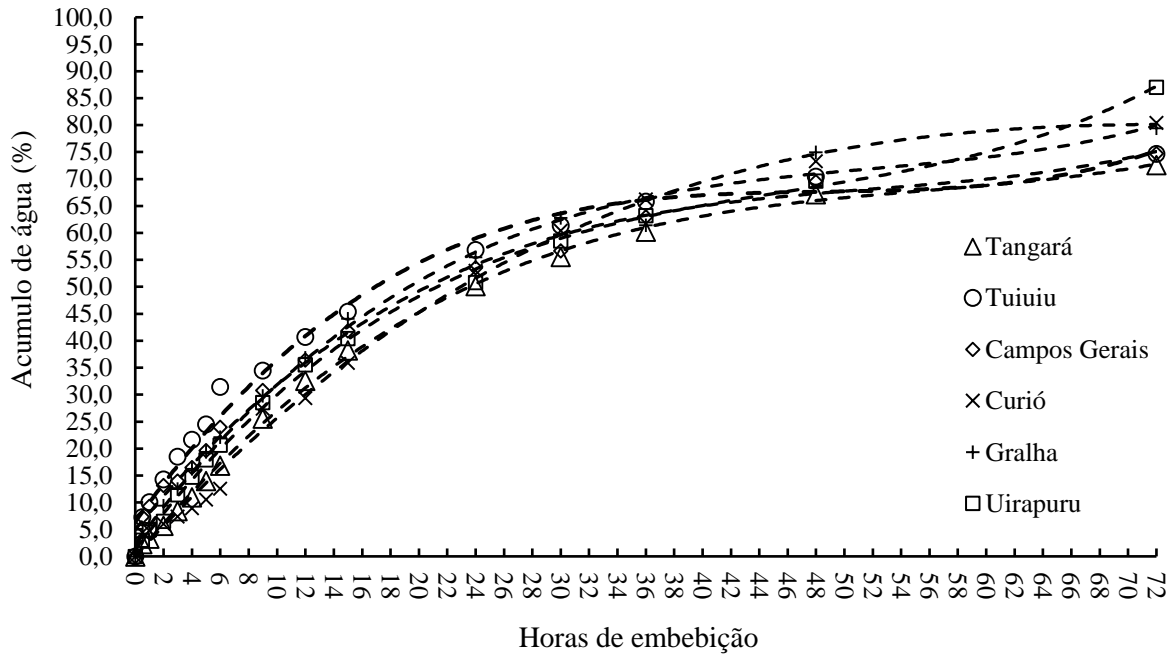


Entretanto, verifica-se que em condições sem restrição hídrica (Figura 3.5.1), a discrepância de acúmulo hídrico foi maior do que em ambientes estressantes, com $-0,4$ MPa (Figura 3.5.2). Em tal situação, a variação entre genótipos foi minimizada, sendo que para atingir a faixa de valores de acúmulo de água similares (aproximadamente 20 a 34,48%) a constatada nas condições anteriores, necessitou-se de um período prolongado, de nove horas, o que implica em maior duração das fases existentes no padrão trifásico de hidratação.

Pereira et al. (2013) constataram que o potencial hídrico da solução influencia o processo de embebição, bem como a qualidade das plântulas. Estes autores verificaram que sementes menores apresentam um melhor desenvolvimento quando acondicionadas em locais com potencial hídrico inferiores a $-0,2$ MPa.

Assim sendo, o cenário permitiu estipular que em ambientes com potencial hídrico de $-0,4$ MPa, a fase I perdurou até as nove horas de embebição, já a fase II manteve-se até as 48 horas e, finalmente, foi observado o final da fase III após 72 horas de embebição. Neste contexto, sementes acondicionadas em ambientes com restrição hídrica necessitaram de maior período de embebição (72 horas), para emitirem os primórdios radiculares (Figura 3.5.2).

Figura 3.5.2. Curvas de embebição de água de sementes de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiu, IPR Galha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionadas em ambiente estressante (-0,4 MPa).



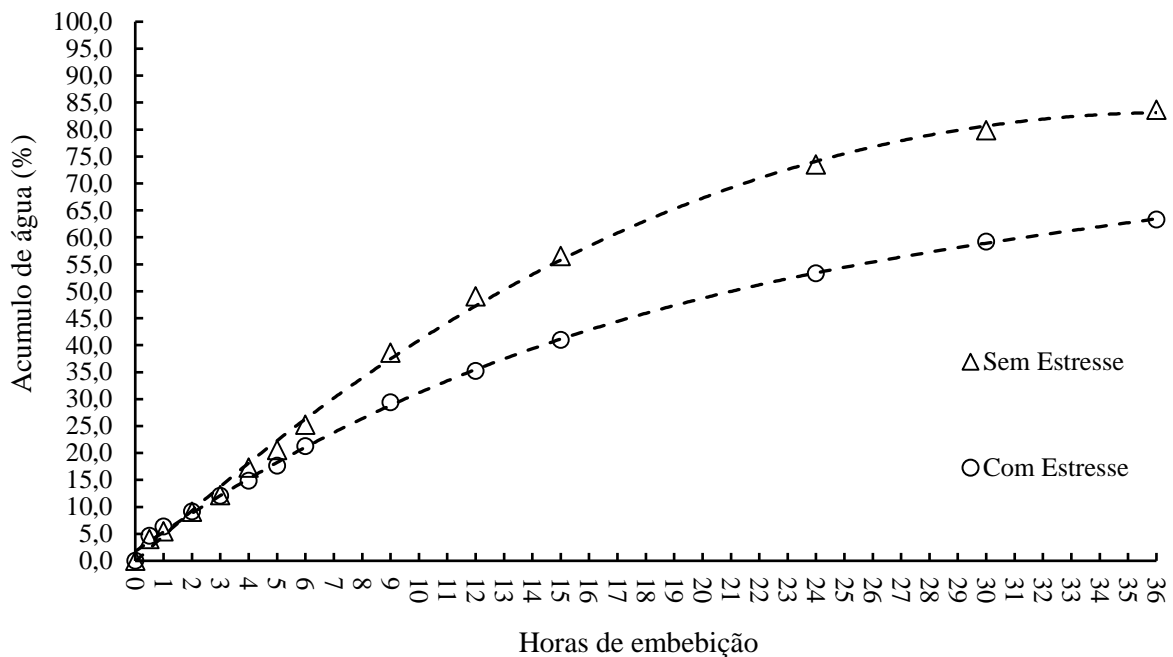
Maciel et al. (2015), ao avaliarem o processo de germinação de sementes em condições de estresse hídrico e salino, constataram que, quando acondicionados em ambientes estressantes, o padrão trifásico de embebição é alongado devido uma maior necessidade de tempo para ocorrer a absorção de água, o que pode resultar em reflexos negativos no processo de germinação.

Machado Neto et al. (2006), ao estudarem a deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão também verificaram aumento no tempo de necessário de embebição, além de uma influência negativa no processo de germinação, sendo que o potencial hídrico de -0,6 MPa mostrou-se como um limitador para um desenvolvimento adequado.

Ressalta-se que nesta situação também não foi observado relação entre os grupos preto e carioca, ou seja, a diferença na pigmentação do tegumento de sementes de feijão mostrou-se indiferente ao processo de embebição, o que reforçou a atribuição da oscilação das taxas de acúmulo de água às características específicas de cada genótipo. Em contrapartida, Powell et al. (1986) verificaram influência da pigmentação da testa (um dos componentes do tegumento) sobre o processo de absorção hídrica.

A Figura 3.5.3 corrobora com os fatos pontuados, uma vez que quando traçada uma linha de tendência com a média de todos os genótipos nos ambientes distintos, observa-se que o acúmulo médio de água de sementes acondicionadas em ambiente sem estresse foi mais robusto do que quando comparado àquelas expostas a condição estressante.

Figura 3.5.3. Curvas médias de embebição de água de sementes de feijão-comum condicionadas em ambientes estressante (-0,4 MPa) e não estressante.



Braga et al. (1999) concluíram que o feijão possui uma elevada sensibilidade a restrição hídrica após a sementeira, sendo que em condições de plena disponibilidade hídrica as sementes são capazes de absorver a água de maneira mais veloz. Durval e Fancelli (2000), além de verificarem diferenças entre o tempo de absorção de água em ambientes com e sem restrição hídrica, ressaltaram que em condições de estresse (-0,35 MPa) pode ocorrer a redução do alongamento celular e, conseqüentemente, da germinação.

Custódio et al. (2009) e Paula et al. (1994) destacam que o metabolismo do feijoeiro é prejudicado em condições de estresse hídrico, sendo que a absorção e emissão da raiz primária ocorre mais rapidamente em condições sem restrição hídrica.

As equações de regressão polinomial de terceiro grau (Tabela 3.5.1) corroboram com a explicação do padrão trifásico de embebição, uma vez que apresentam ajustes de no mínimo 98,86%, independente ao genótipo ou ambiente de condicionamento.

Tabela 3.5.1. Equações de regressão polinomial de curvas de embebição de genótipos de feijão-comum dos grupos preto (IPR Tuiuiú, IPR Gralha e IPR Uirapuru) e carioca (IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Curió) condicionados em ambientes sem e com estresse (-0,4 MPa).

Sem Estresse		
Cultivar	Equação	R ²
IPR Tangará	$y = 3E-05x^3 - 0.0594x^2 + 4.1789x - 0.5958$	0,9971
IPR Tuiuiú	$y = 0.0004x^3 - 0.0796x^2 + 4.4425x + 2.257$	0,9979
IPR Campos Gerais	$y = 0.0004x^3 - 0.0807x^2 + 4.4717x + 2.1219$	0,9966
IPR Curió	$y = -0.0021x^3 + 0.0733x^2 + 2.558x - 1.8393$	0,9990
IPR Gralha	$y = 0.001x^3 - 0.1257x^2 + 5.6275x + 1.9406$	0,9982
IPR Uirapuru	$y = 0.0019x^3 - 0.2162x^2 + 8.0677x - 4.85$	0,9922
Com Estresse		
Cultivar	Equação	R ²
IPR Tangará	$y = 0.0003x^3 - 0.0536x^2 + 3.2135x - 0.1216$	0,9989
IPR Tuiuiú	$y = 0.0005x^3 - 0.0755x^2 + 3.7053x + 6.3962$	0,9886
IPR Campos Gerais	$y = 0.0004x^3 - 0.0577x^2 + 3.2202x + 4.9588$	0,9943
IPR Curió	$y = 0.0001x^3 - 0.0343x^2 + 2.8972x - 0.0136$	0,9946
IPR Gralha	$y = 0.0004x^3 - 0.0639x^2 + 3.553x + 2.2931$	0,9950
IPR Uirapuru	$y = 0.0005x^3 - 0.0666x^2 + 3.4881x + 1.2807$	0,9986
Comparação		
Estresse	Equação	R ²
Sem	$y = 0.0003x^3 - 0.0814x^2 + 4.8911x - 0.161$	0,9985
Com	$y = 0.0008x^3 - 0.082x^2 + 3.6844x + 1.7638$	0,9989

De acordo com as informações apresentadas, a capacidade de absorção de água relaciona-se com as características específicas de cada material, em especial sua composição química correlacionada ao potencial hídrico do ambiente, uma vez que cada composto químico possui uma determinada afinidade hídrica (MARCOS FILHO, 2015).

Legesse e Powell (1996), ao estudarem o desenvolvimento de sementes, concluíram que existe uma relação entre componentes químicos e o processo de absorção de água, como por exemplo, a influência da pigmentação com taxas mais lentas de embebição. Powell et al. (1986) também observaram tal diferença e ressaltaram que sementes sem rastros de pigmentos em sua testa absorvem água em uma intensidade superior àquelas com pigmentação.

Tabela 3.5.2. Correlação simples de Pearson entre componentes químicos/nutricionais e períodos de embebição de água por sementes de feijão-comum condicionadas em ambientes sem e com estresse (-0,4 MPa).

	Sem estresse														
	IA0.5	IA1	IA2	IA3	IA4	IA5	IA6	IA9	IA12	IA15	IA24	IA30	IA36	IA48	IA72
CEL	-0,52	-0,59	-0,68	-0,81	-0,94	-0,91	-0,88	-0,19	-0,75	-0,71	-0,43	-0,27	-0,24	-	-
LIG	0,33	0,14	0,16	-0,19	-0,49	-0,59	-0,61	-0,49	-0,71	-0,73	-0,82	-0,82	-0,80	-	-
HCEL	0,85	0,88	0,84	0,75	0,37	0,22	0,17	0,81	0,01	-0,04	-0,15	-0,23	-0,24	-	-
CIN	0,48	0,37	0,45	0,56	0,03	-0,05	-0,07	0,34	-0,16	-0,21	-0,38	-0,43	-0,44	-	-
PROT	0,22	0,15	0,28	0,48	0,22	0,21	0,21	-0,13	0,17	0,13	-0,09	-0,16	-0,17	-	-
LIP	-0,12	-0,21	-0,20	0,00	-0,05	-0,01	-0,07	0,49	-0,10	-0,10	-0,15	-0,17	-0,20	-	-
CARB	0,85	0,86	0,88	0,62	0,53	0,39	0,36	0,03	0,17	0,13	-0,09	-0,21	-0,21	-	-
Fe	-0,15	-0,04	-0,09	-0,33	-0,13	-0,12	-0,06	-0,58	0,02	0,05	0,20	0,26	0,31	-	-
Mn	0,52	0,63	0,55	0,51	0,52	0,44	0,40	0,82	0,29	0,27	0,24	0,17	0,15	-	-
Cu	0,71	0,74	0,66	0,25	0,22	0,07	0,03	0,16	-0,12	-0,14	-0,19	-0,25	-0,25	-	-
Zn	-0,13	-0,18	-0,21	0,02	-0,23	-0,22	-0,24	0,69	-0,21	-0,22	-0,14	-0,10	-0,12	-	-
Ca	0,70	0,71	0,61	0,20	0,14	0,00	-0,05	0,25	-0,21	-0,23	-0,26	-0,31	-0,31	-	-
Mg	0,63	0,61	0,61	0,26	0,15	0,02	0,02	-0,31	-0,12	-0,14	-0,27	-0,33	-0,31	-	-
K	0,31	0,18	0,19	0,14	-0,45	-0,54	-0,55	0,20	-0,59	-0,62	-0,64	-0,61	-0,59	-	-
P	0,08	0,08	0,03	0,02	-0,45	-0,50	-0,47	0,28	-0,42	-0,43	-0,29	-0,20	-0,17	-	-
MCS	0,02	0,27	0,21	0,28	0,45	0,46	0,52	0,22	0,60	0,62	0,75	0,76	0,78	-	-

IA: Índice de absorção; CEL: celulose; LIG: lignina; HCEL: hemicelulose; CIN: cinzas; PROT: proteínas; LIP: lipídeos; CARB: carboidratos; Fe: ferro; Mn: manganês; Cu: cobre; Zn: zinco; Ca: cálcio; Mg: magnésio; K: potássio; P: fósforo; MCS: massa de cem sementes.

Continuação da Tabela 3.5.2.

	Com estresse														
	IA0.5	IA1	IA2	IA3	IA4	IA5	IA6	IA9	IA12	IA15	IA24	IA30	IA36	IA48	IA72
CEL	-0,23	-0,41	-0,41	-0,67	-0,56	-0,71	-0,69	-0,20	-0,63	-0,62	-0,39	-0,42	-0,37	-0,36	-0,47
LIG	-0,04	-0,11	-0,03	-0,29	0,02	-0,34	-0,29	-0,17	-0,45	-0,41	-0,46	-0,56	-0,56	-0,51	-0,74
HCEL	0,73	0,79	0,85	0,80	0,58	0,80	0,79	0,43	0,66	0,63	0,52	0,28	0,33	0,26	0,02
CIN	-0,15	-0,05	0,07	0,08	-0,19	0,16	0,14	0,18	0,01	0,01	-0,18	-0,27	-0,31	-0,32	-0,44
PROT	-0,51	-0,36	-0,27	-0,12	-0,27	-0,01	-0,01	0,14	-0,07	-0,04	-0,26	-0,19	-0,28	-0,24	-0,21
LIP	0,06	0,07	0,03	0,03	-0,27	0,00	-0,17	-0,68	-0,27	-0,36	-0,43	-0,47	-0,45	-0,53	-0,29
CARB	0,54	0,62	0,66	0,66	0,82	0,64	0,70	0,39	0,57	0,60	0,45	0,33	0,33	0,34	0,13
Fe	-0,05	-0,12	-0,13	-0,16	0,20	-0,17	0,00	0,53	0,15	0,22	0,39	0,46	0,46	0,53	0,34
Mn	0,87	0,90	0,86	0,87	0,69	0,84	0,78	0,19	0,73	0,67	0,65	0,48	0,55	0,46	0,41
Cu	0,87	0,82	0,83	0,66	0,91	0,57	0,62	0,26	0,51	0,52	0,52	0,32	0,40	0,37	0,10
Zn	0,03	0,01	0,02	-0,02	-0,42	-0,01	-0,13	-0,27	-0,16	-0,23	-0,22	-0,30	-0,27	-0,35	-0,27
Ca	0,92	0,86	0,86	0,65	0,87	0,55	0,58	0,16	0,46	0,45	0,46	0,24	0,33	0,29	0,03
Mg	0,32	0,33	0,39	0,29	0,60	0,26	0,37	0,39	0,28	0,34	0,27	0,18	0,18	0,23	-0,06
K	-0,13	-0,14	-0,02	-0,19	-0,32	-0,15	-0,14	0,16	-0,24	-0,23	-0,28	-0,42	-0,42	-0,42	-0,66
P	-0,09	-0,14	-0,04	-0,17	-0,32	-0,11	-0,04	0,50	-0,01	0,00	0,10	-0,01	0,01	0,00	-0,28
MCS	0,20	0,24	0,23	0,40	0,35	0,46	0,58	0,88	0,78	0,80	0,92	0,97	0,96	0,97	0,86

IA: Índice de absorção; CEL: celulose; LIG: lignina; HCEL: hemicelulose; CIN: cinzas; PROT: proteínas; LIP: lipídeos; CARB: carboidratos; Fe: ferro; Mn: manganês; Cu: cobre; Zn: zinco; Ca: cálcio; Mg: magnésio; K: potássio; P: fósforo; MCS: massa de cem sementes.

A Tabela 3.5.2 apresenta a correlação entre os componentes químicos das sementes e o processo de absorção de água em ambientes sem e com estresse (-0,4 MPa). Para o ambiente sem estresse, observou-se que a hemicelulose (HCEL), carboidrato (CARB), cobre (Cu) e cálcio (Ca) favoreceram a absorção de água nas primeiras horas de acondicionamento, em contrapartida, a celulose (CEL) atuou contra a absorção hídrica desde as primeiras horas de acondicionamento.

Em ambiente com restrição hídrica, a relação entre água e os compostos químicos sofreu alterações. Quando avaliado a correlação positiva, constatou que além dos componentes que beneficiam a absorção de água citados anteriormente, o manganês também desempenha papel importante neste processo, com uma correlação de 0,87. Em relação a correlação negativa, quando foi alterado as características do ambiente, a proteína tornou-se o principal componente contrário a absorção de água.

Os carboidratos possuem como função o fornecimento de energia para a retomada da atividade metabólica e, conseqüentemente, do desenvolvimento do eixo embrionário durante o processo de germinação. Observou-se que esta classe de substância exerceu maior influência sobre a absorção de água nas primeiras horas de acondicionamento, independente ao nível de estresse avaliado, principalmente devido à presença de hemicelulose e celulose (MARCOS FILHO, 2015).

A hemicelulose é classificada como um polissacarídeo de reserva da parede celular que pode ser dividido em três grupos (mananos, xiloglucanos e galactanos) com variados graus de solubilidade em água. Entre os tipos de hemicelulose, os mananos são aqueles que quando presente em sementes são associados com a restrição da protrusão dos primórdios radiculares além de ser um dos constituintes relacionados a consistência do tegumento. Para a situação avaliada, constatou-se que a hemicelulose beneficiou a absorção de água durante o período inicial de embebição (BUCKERIDGE et al., 2000), permitindo inferir que há uma maior concentração de xiloglucanos e galactanos, substâncias com solubilidade hídrica superior (GALLI, 2011).

Em contrapartida, a celulose figura como um dos principais componentes da parede celular (aproximadamente 30%), sendo que este composto forma o conjunto denominado de fibra bruta, presente em grande quantidade no tegumento das sementes e com característica de insolubilidade em água. Neste contexto, constata-se que a celulose atua como componente de uma barreira inicial com a função de retardar a velocidade do processo de absorção de água. Apesar da baixa afinidade com a água, a presença desta barreira beneficia a

redução de possíveis danos por uma pressão de embebição elevada.

Conforme exposto anteriormente, assim como os carboidratos, alguns minerais também apresentaram correlação com o processo de absorção de água (Tabela 3.5.2). A influência positiva verificada para o cálcio corrobora a presença de compostos mais solúveis, uma vez que além de ser um dos principais constituintes da parede celular e da lamela média também associa-se com as pectinas, compreendidas como cadeias de ácido poligalacturônico (derivados de galactanos). O complexo de cálcio e pectina funciona como um produto capaz de prover firmeza aos tecidos vegetais e atuar no processo de absorção de solutos. Esteves et al. (2002), ao analisarem a absorção de água em sementes de feijão, associaram este processo com a deposição de pectato de cálcio na lamela média.

O cobre está relacionado com o processo de lignificação, uma vez que quando em deficiência ocorre a redução da atividade enzimática e, conseqüentemente, o acúmulo de fenóis. O processo de lignificação proporciona o aumento de barreira física, podendo atuar contra um gradiente hídrico, ou seja, quando em concentrações elevadas, este nutriente tende a reduzir a absorção. Lopes et al. (2018), ao avaliarem a absorção de água por sementes de feijão, expuseram que elevados níveis de ligninas na testa podem reduzir o processo adequado de embebição,

Por fim, o manganês se relaciona com o processo metabólico vegetal, pois quando em deficiência reduz a eficiência fotossintética, bem como a concentração de carboidratos solúveis, como a hemicelulose presente na reserva da parede celular, assim sendo, a maior concentração deste nutriente contribui para a síntese de substâncias de solubilidade mais elevada (TAIZ et al., 2017).

Conforme já exposto, independente a relação entre água e composto químico, o processo de embebição ocorre de maneira gradativa com o umedecimento da superfície de contato e caminhamento da água até o interior da semente. Entretanto, a hidratação tende a não ser uniforme já que a composição das partes das sementes oscilam como, por exemplo, regiões com maior concentração de proteínas absorvem mais água do que aquelas com predomínio de lipídeos.

Devido os componentes presentes na sementes de feijão, observou-se na correlação (Tabela 3.5.2) que compostos que geralmente contribuem para uma menor absorção hídrica, como os lipídeos, não influenciaram em tal processo. Este fator pode ser atribuído à baixa concentração deste componente nas sementes de feijão, pois independente ao grupo (preto ou carioca) há predominância de proteínas e carboidratos.

3.6 CONCLUSÕES

Sementes de feijão-comum acondicionadas em ambiente sem restrição hídrica necessitam de 36 horas para emitirem os primórdios radiculares. No entanto com restrição hídrica (-0,4 MPa), as sementes de feijão-comum necessitam de 72 horas para emitirem os primórdios radiculares.

Para as sementes de diferentes genótipos dos grupos preto e carioca, não há diferença no processo de embebição, independente ao ambiente de acondicionamento.

Ao alterar o ambiente de acondicionamento das sementes, ocorre oscilação na correlação dos componentes químicos e a absorção de água.

A hemicelulose, o cálcio, manganês e o cobre apresentam correlação positiva em relação a absorção de água pelas sementes de feijão-comum nas primeiras horas do processo. A celulose compõe a parede celular e apresenta correlação negativa com a absorção de água nas primeiras horas de embebição.

Em ambiente com restrição hídrica, a presença de proteína aumenta a influência no processo de embebição.

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.C.F.; RODRIGUES, T. de J.D.; MENDONÇA, E.A.F. Absorção de água por sementes de *Crotalaria spectabilis* Roth determinada em diferentes temperaturas e disponibilidade hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, p. 206-215, 2000

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19 ed. Virginia: AOAC International v. 1 ou 2, 2012.

BAYRAM, M.; ONER, M. D.; KAYA, A. Influence of soaking on the dimensions and colour of soybean for bulgur production. **Journal of Food Engineering**, London, v. 61, n. 3, p. 331-339, 2004.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRACCINI, A. L.; REIS; M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T.; ROCHA, V. S. Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 9, p. 1451-1459, 1998.

BRADFORD, K.J. **Water relations analysis of seed germination**. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Decker, 1995. p. 351 – 396.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; BRAGA, J. F.; SÁ, M. E. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 95-102, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de Sementes**. Brasília - DF: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 365p. 2009.

BUCKERIDGE, MARCOS S., et al. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12.especial, 2000.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. Conab, Brasília, v. 4, n. 10, p. 1-171, 2017. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_07_12_11_17_01_boletim_graos_julho_2017.pdf > Acesso em: 16 mai. 2018.

CUSTÓDIO, C. C.; SALOMÃO, G. R.; MACHADO NETO, N. B. Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas a diferentes soluções osmóticas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 4, p. 617-623, 2009.

DURVAL, D. N.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. *Guaíba: Agropecuária*, 2000.

ESTEVES, A. M.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; CORRÊA, A. D. Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n.5, p. 999-1005, 2002.

FADEL, R.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I. P. D.; OLIVEIRA, J. D. D. S. Avaliação de diferentes proporções de água e de uréia sobre a composição bromatológica da palha de arroz. **Ciência Animal Brasileira**, v.4, n.2, p. 101- 107, jul/dez, 2003.

FONSECA, L. C.; CORRÊA, N. C. R.; GARROTE-FILHO, M. da S.; CUNHA, C. C. da; PENHA-SILVA, N. Efeito da composição do solvente sobre a estabilidade de proteínas em soluções aquosas. **Quim. Nova**, v. 29, n. 3, p. 543-548, 2006.

GALLI, A. P. **Tratamento de sementes de feijão, soja e arroz com vinhaça de batata (*Solanum tuberosum* L.)** (Doctoral dissertation, Universidade Federal de Santa Maria), 2011.

LEGESSE, N.; POWELL, A.A. The association between the development of seed coat pigmentation during maturation of grain legumes and reduced rates of imbibition. **Seed Science and Technology**, v.24, n.1, p.23-32, 1996.

LISAR, S.Y.S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M.M.; RAHMAN, I.M.M. **Water stress in plants: causes, effects and response**. In RAHMAN, I.M.M., Water Stress, Rijeka: INTECH, p.1-14, 2012.

LOPES, H. M.; BENNETT, M. A.; DE AMORIM BRANDÃO, A. Condicionamento fisiológico em sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo método do tambor. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, v.13, n.2, 5523, 2018.

MACHADO NETO, NELSON BARBOSA MACHADO, et al. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.142-148, 2006.

MACIEL, Khétrin Silva, et al. Germinação de sementes de beterraba em condições de estresse hídrico e salino. **Nucleus**, v.12, n.2, p. 189-199, 2015.

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

MUNNÉ-BOSH, S.; QUEVAL, L.; FOYER, C.H. The impact of global change factors on redox signaling underpinning stress tolerance. **Plant Physiology**, v.161, n.1, p. 5-19, 2013.

PAULA, S. V.; RUIZ, H. A.; ALVARENGA, E. M. Avaliação de plântulas de feijão como critério para seleção de cultivares tolerantes à salinidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, n. 2, p. 220-224, 1994.

PEREIRA, W. A.; PEREIRA, S. M. A.; DOS SANTOS DIAS, D. C. F. Influência da classificação das sementes de soja em tamanho e da restrição hídrica sobre o desenvolvimento inicial das plântulas. **Journal of Seed Science**, v.35, n.3, 2013.

POWELL, A.A.; OLIVEIRA, M. DE A.; MATTHEWS, S. The role of imbibition damage in determining the vigour of white and coloured seed lots of dwarf French bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Experimental Botany**, v.57, n.5, p.716-722. 1986.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

TAIZ, L.; ZEIGUER, E.; MOLLER, M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

4 ARTIGO B - TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM COM ACIBENZOLAR-S-METHYL NA INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO

4.1 RESUMO

As plantas cultivadas estão sujeitas a influência de diversos fatores estressantes desde o início de seu ciclo produtivo, portanto a adesão de práticas que visam minimizar efeitos deletérios, como o tratamento de sementes, torna-se viável. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de acibenzolar-s-methyl (ASM) aplicadas no tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum submetidos ao estresse hídrico. O experimento conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5x4, sendo cinco concentrações de ASM (0,062; 0,125; 0,25 e 0,5 g de Bion 500 WG[®]) e quatro condições hídricas (0,0 (nulo); -0,2 (baixo); -0,4 (médio) e -0,8 (alto) MPa). Foram avaliados variáveis relacionadas ao potencial fisiológico de sementes e a concentração de enzimas de defesa vegetal. Para as variáveis quantitativas que apresentaram significância, foi aplicado o teste de regressão polinomial até segundo grau e, para as de caráter qualitativo, o de Tukey ($p > 0,05$). A aplicação de ASM proporcionou a manutenção dos níveis iniciais do potencial fisiológico de sementes, sendo a dose de 0,125 gramas de Bion suficiente. Os níveis de proteínas e catalase aumentam conforme elevou-se o nível de estresse e a dose de ASM, porém o oposto foi constatado para a peroxidase e a fenilalanina amônia liase. Em relação ao déficit hídrico, verificou-se que a partir de -0,8 MPa ocorreu um decréscimo no potencial fisiológico das sementes, independente da dose de ASM aplicada.

Palavras-chave: Catalase. Indução de resistência. Peroxidase. Potencial fisiológico.

4.2 ABSTRACT

Cultivated plants are subject to the influence of several stressors since the beginning of their production cycle, so the adherence to practices that aim to minimize harmful effects, such as seed treatment, becomes viable. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of doses of acibenzolar-s-methyl (ASM) applied in seed treatment in the initial development of common bean seedlings submitted to water stress. The experiment was conducted in a completely randomized design, with a 5x4 factorial scheme, with five concentrations of ASM (0.062; 0.125; 0.25 and 0.5 g of Bion 500 WG[®]) and four water conditions (0.0 (null); - 0.2 (low); -0.4 (medium) and -0.8 (high) MPa). Variables related to the physiological potential of seeds and the concentration of plant defense enzymes were evaluated. For the quantitative variables that showed significance, the polynomial regression test up to the second degree was applied and, for the qualitative variables, the Tukey test ($p > 0.05$). The application of ASM provided the maintenance of the initial levels of the physiological potential of seeds, with a dose of 0.125 grams of Bion sufficient. The levels of proteins and catalase increase as the level of stress and the dose of ASM increased, but the opposite was found for peroxidase and phenylalanine ammonia lyase. Regarding the water deficit, it was found that from -0.8 MPa there was a decrease in the physiological potential of the seeds, regardless of the applied ASM dose.

Keywords: Catalase. Resistance induction. Peroxidase. Physiological potential.

4.3 INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um produto mundialmente difundido, produzido em larga escala pois possui alta capacidade de se adaptar a diferentes ambientes de cultivo. Destaca-se como uma das principais fontes proteicas componente da dieta alimentar humana, principalmente devido sua acessibilidade e praticidade de consumo (CIAT, 2015; FILGUEIRA, 2006)

Estas características favorecem seu vasto cultivo, entretanto o feijoeiro é classificado como uma planta sensível a condições ambientais adversas, responsáveis por interferir no ciclo de desenvolvimento da cultura. Essas condições estressantes podem ser classificadas em bióticas ou abióticas e atuam negativamente em diversos estádios fenológicos vegetal, entre eles o de emergência, crescimento e estabelecimento de plântulas (TAIZ et al., 2017; FILGUEIRA, 2006).

Dentre os fatores abióticos de maior impacto nos estádios iniciais, destaca-se o déficit hídrico. Este fator estressante influencia o processo de regulação metabólica, devido à instabilidade gerada entre a demanda de evapotranspiração e a tensão de água na planta, além de causar sérios danos a membrana plasmática, que podem levar a morte celular (LISAR et al., 2012). Do mesmo modo, diminui o processo germinativo e desenvolvimento inicial de plântulas por meio da redução da concentração intercelular de CO₂ e condutância estomática, o que reduz a translocação de assimilados e, conseqüentemente, diminui a eficiência fotossintética bem como o rendimento final das culturas (NASCIMENTO et al., 2011; MATTA, 2003).

Portanto, torna-se necessário avaliar métodos que auxiliem as plantas a superar as adversidades. Dentre eles, metodologias que elevam a tolerância da cultura às intempéries por meio da aplicação de compostos exógenos ao metabolismo vegetal, deixando-a mais resistente, surgem como forma de otimizar sua proteção (BOSTOCK et al., 2001; OOSTENDORP et al., 2001). Estes processos podem ser realizados por meio de diferentes formas, sendo uma delas o aumento da concentração de proteínas protetoras e a ativação de enzimas de desintoxicação, as quais podem ser mensuradas pela atividade de substâncias como a catalase, ascorbato peroxidase, fenilalanina amônia-liase e superóxido desmutase (MITTLER, 2002; FELIPE et al., 2009).

Nesse contexto, o acibenzolar-s-methyl (ASM) aparece como agente bioquímico influente nos processos de defesa da planta, uma vez que é classificado como precursor do ácido salicílico (AS), hormônio presente e integrante de rotas metabólicas secundárias atuantes no mecanismo de defesa vegetal (PASCHOLATI et al., 2010). Desta

forma, o ASM é considerado um potente ativador de resistência com baixa toxicidade, com mecanismo de ação relacionado com o acúmulo de enzimas de combate ao estresse oxidativo, além de correlacionar-se com genes influentes no processo de resistência sistêmica adquirida (RSA), mediadas pelo AS (PASCHOLATI et al., 2010; OOSTENDORP et al., 2001).

Alguns estudos demonstram a eficiência do ASM na ação contra doenças de que causam danos econômico (KUHN, 2007; CAVALCANTI; RESENDE, 2004;), porém em relação a agentes abióticos esta abordagem torna-se escassa. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de ASM aplicadas no tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum submetidos aos estresse hídrico.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em um Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual de Londrina, e o experimento conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5x4, sendo cinco concentrações de acibenzolar-s-methyl (ASM) e quatro condições hídricas de natureza distintas.

As doses de ASM utilizadas basearam-se na recomendação do fabricante, sendo elas 0,062; 0,125; 0,25 e 0,5 g de Bion 500 WG[®], por litro de calda, mais uma testemunha, composta por água destilada. A aplicação foi realizada na proporção de 6 mL da solução (diferentes concentrações) para cada quilo sementes, em sacos plásticos, e agitadas até uma deposição uniforme na superfície das mesmas. Para o tratamento controle aplicou-se o volume correspondente em água destilada, e também utilizado para completar o volume da calda dos demais tratamentos.

Para simular as variações das condições hídricas, utilizou-se o produto polietilenoglicol (PEG 6000) em concentrações distintas, o que gerou diferentes níveis de estresse hídricos, 0,0 (nulo); -0,2 (baixo); -0,4 (médio) e -0,8 (alto) MPa. Cada tratamento foi constituído por oito repetições, sendo considerado cada rolo de germinação uma unidade experimental, nos quais foram dispostas 50 sementes. Para cada unidade experimental utilizou-se três folhas de papel germitest, umedecidas com as soluções ou água destilada, conforme os tratamentos, sendo a quantidade de volume utilizado determinada pela equação:

$$VC = MPS * 2,5$$

VC: volume de calda (ml);

MPS: massa de papel seco (g);

2,5: fator de conversão.

Utilizou-se sementes de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertencentes a ao grupo e carioca (IPR Campos Gerais), obtidas no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), sendo os tratamentos aplicados e analisados de forma separada. Assim sendo, avaliou-se:

Germinação (GER): distribuiu-se as sementes de maneira uniforme sobre duas folhas de papel germitest e cobertas por uma terceira, sendo estas previamente umedecidas com 2,5 vezes a massa do papel seco em volume de calda. Após a confecção de oito repetições de 50 sementes, os rolos foram acondicionados em câmara de germinação com temperatura constante de 25° C e mantidos por nove dias até o momento da avaliação (BRASIL, 2009).

Primeira Contagem de Germinação (PCG): realizada simultaneamente ao teste de germinação, por meio da contagem e retirada de plântulas normais das unidades experimentais cinco dias após a montagem do teste.

Comprimento de Parte Aérea (CPA) e Radicular (CR): foram distribuídas 20 sementes no terço superior de rolos de papel de germinação umedecidos e confeccionados seguindo a metodologia descrita previamente para o teste de germinação (BRASIL, 2009). Nove dias após a semeadura mensurou-se separadamente a parte aérea (coleta da plântula até a inserção da gema apical) e radicular (inserção da radícula no coleto até a extremidade da raiz principal) das plântulas, sendo os resultados expressos em centímetros.

Plântulas Normais (PN) e Anormais (PA): número de plântulas normais e anormais contabilizadas ao final do teste de germinação.

Após a realização das análises fitométricas, coletou-se amostras de plântulas normais obtidas no teste de germinação, sendo estas posteriormente processadas para as análises bioquímicas. Com estas, foi preparado um extrato proteico por meio da coleta de 0,5 g de tecido vegetal fresco, macerado em almofariz previamente resfriada contendo 3 ml de solução tampão fosfato de potássio, 0,1 M e pH 7,5, sendo em seguida acondicionado em tubo eppendorf e centrifugado a 12.000 rpm a 4°C por 15 min. Após o processo determinou-se o teor de proteínas totais e a atividade das enzimas fenilalanina amônia liase, catalase e peroxidase:

Proteínas Totais (PROT): realizada com base no método descrito por Bradford (1976).

Fenilalanina amônia liase (FAL): foi realizada por meio da colorimetria do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, seguindo-se a metodologia descrita por Kuhn (2007).

Catalase (CAT): coletou-se em uma cubeta 900 µL da solução B (tampão fosfato de potássio 0,05 M e pH 7,0, contendo peróxido de hidrogênio 12,5 mM) com posterior

adição de 100 µL do sobrenadante do extrato proteico. A atividade enzimática foi determinada em espectrofotômetro na absorvância a 240 nm, utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (ANDERSON et al., 1995).

Peroxidase (PER): coletou-se em uma cubeta 900 µL da solução A (250 µL guaiacol + 306 µL de peróxido de hidrogênio, completando o volume para 100 mL com tampão fosfato de potássio 0,01 M e pH 6,0) e 100 µL do sobrenadante do extrato proteico, em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 470 nm. A atividade enzimática foi determinada pela conversão do composto guaiacol a tetraguaiacol (LUSSO; PASCHOLATI, 1999).

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Hartley). Para aquelas variáveis quantitativas que apresentaram significância, aplicou-se o teste de regressão polinomial até segundo grau e, para as de caráter qualitativo, realizou-se o teste de Tukey ($p > 0,05$).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância (Tabela 4.5.1), observou-se para o grupo carioca efeito significativo para a interação entre estresse (E) e doses (D) para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), plântulas normais (PN) e comprimento de parte aérea (CPA) e radicular (CR). As variáveis proteína (PROT), peroxidase (PER) e fenilalanina amônia liase (FAL) apresentaram significância para as duas fontes de variação de forma isolada, sendo que apenas a catalase (CAT) respondeu somente às doses de acibenzolar-s-methyl (ASM).

A Figura 4.5.1 explana a resposta de cada variável em relação a interação entre níveis de estresse e doses de ASM. Para a PCG, observou-se que apenas as doses aplicadas em ambiente de alto estresse apresentaram um ajuste satisfatório à curva de regressão polinomial, sendo esta $y = -353.75 x^2 + 208.81x + 38.20$, com R^2 de 85,79% e ponto de máxima de 0,295 g de Bion L^{-1} , o que demonstra que a melhor resposta para esta variável ocorrerá com a dosagem calculada.

Tabela 4.5.1. Análise de variância com valores dos quadrados médios para as características proteína (PROT), catalase (CAT), peroxidase (PER), fenilalanina amônia liase (FAL), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de feijão-comum dos grupos carioca submetidas a diferentes doses de ASM e níveis de estresse hídrico.

Fontes de variação	Grupo Carioca									
	PCG	GER	PN	PA	CPA	CR	PROT	CAT	PER	FAL
Estresse (E)	4710,75**	4849,05**	3914,10**	541,73**	9944,99**	13874,34**	0,49**	18771,83 ^{NS}	2,95*	0,80**
Dose (D)	234,25**	528,55**	217,99**	60,48**	360,25*	1390,98**	0,18*	72574,16**	2,96**	2,57**
E x D	132,27**	685,95**	69,87**	12,35 ^{NS}	536,93**	458,91**	0,04 ^{NS}	18358,77 ^{NS}	0,60 ^{NS}	0,08 ^{NS}
Resíduo	35,86	972	23,49	6,61	123,92	109,63	0,06	11440,76	0,71	0,19
Média Geral	76,81	84,83	73,65	11,05	79,38	77,71	0,65	314,10	2,30	1,30
C.V. (%)	7,80	4,74	6,58	23,26	14,02	13,47	37,19	34,05	36,84	33,32

**significativo à 1% pelo teste F ($p < 0,01$); *significativo à 5% pelo teste F ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); CV: coeficiente de variação.

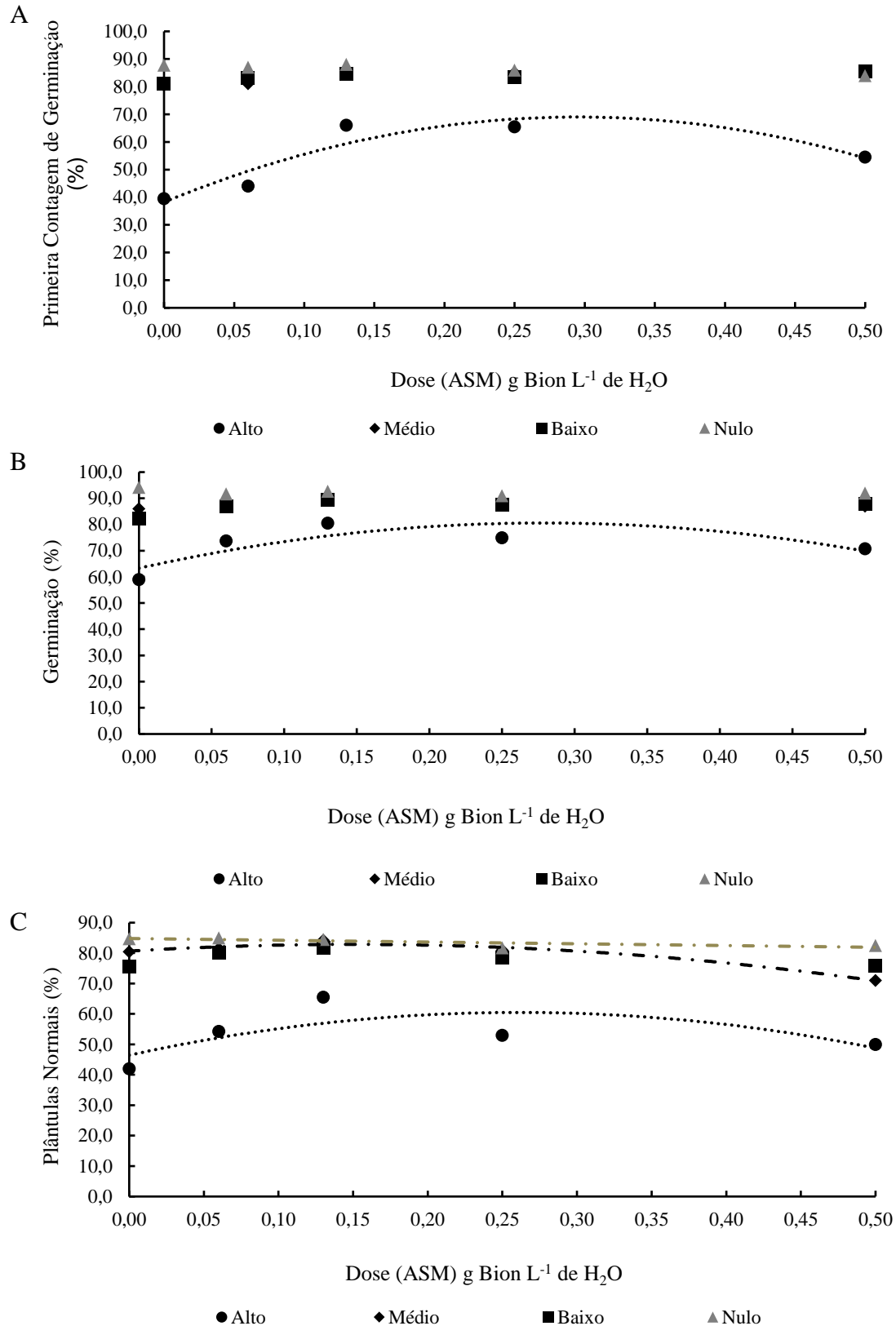
Em relação a GER (Figura 4.5.1 - B), também constatou-se um ajuste adequado apenas para a condição de estresse elevado, com a equação de $y = -221,23x^2 + 123,61x + 63,30$, R^2 de 65,97% e ponto de máximo igual a 0,278 g de Bion L⁻¹, alcançando uma média de 72 sementes germinadas.

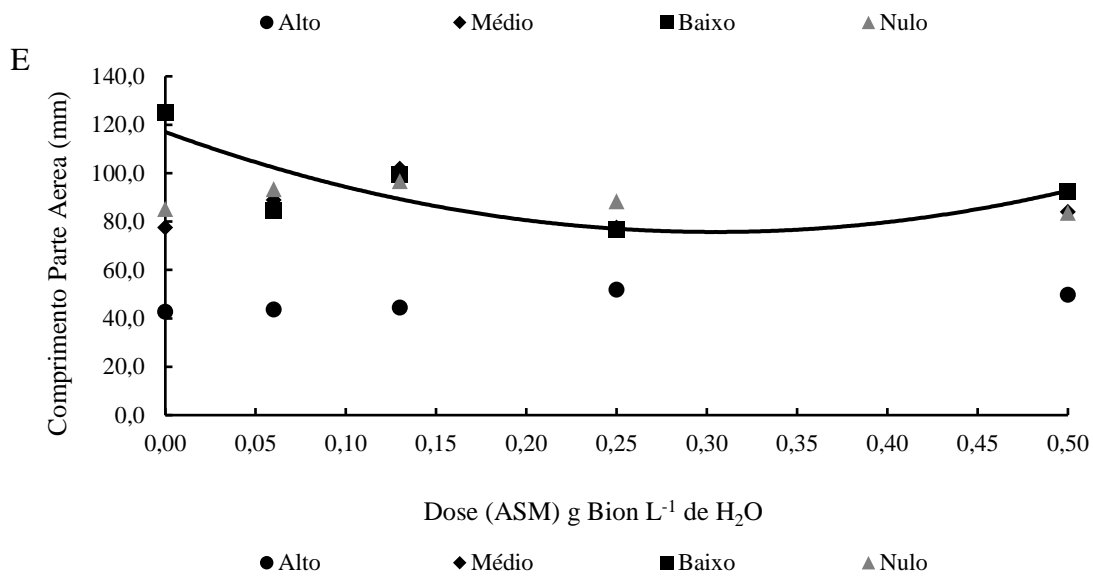
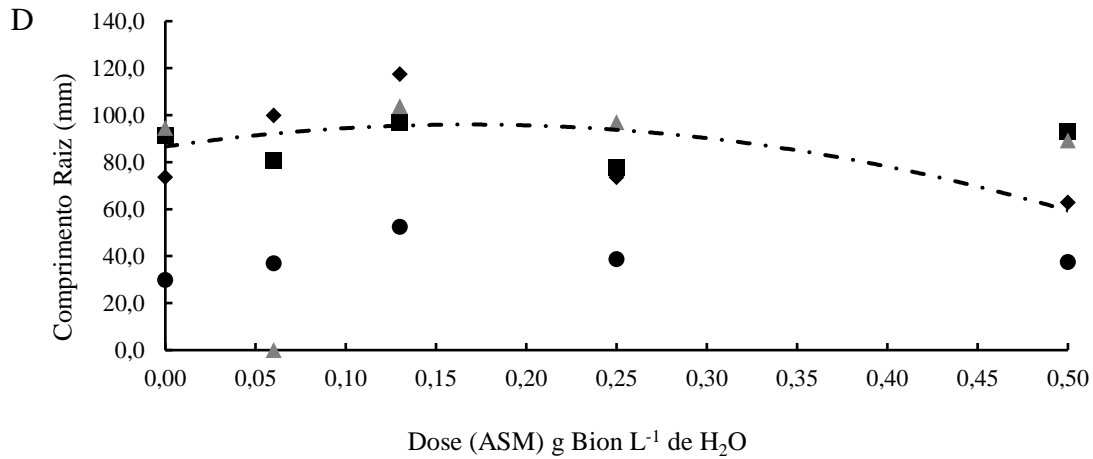
Para PN, em contrapartida, observou-se ajustes para os níveis de estresse nulo, médio e alto (Figura 4.5.1 - C). O ambiente nulo apresentou um ajuste linear de $y = -5,79x + 84,79$, com R^2 de 60,48% e uma média de 92 plântulas normais, já para as dosagens submetidas a situações com estresse mediano obteve-se um ajuste por meio da equação $y = -97,90x^2 + 29,41x + 80,64$, com R^2 de 96,88%, ponto de máximo 0,150 g de Bion L⁻¹ e uma média de 80 plântulas germinadas. Por fim, para ambientes com estresse elevado o ajuste adequado foi atingido pela equação $y = -203,03x^2 + 107,62x + 46,44$, com R^2 de 46,29, ponto de máximo de 0,261 g de Bion L⁻¹ e uma média de 53 plântulas normais.

Em relação a CPA (Figura 4.5.1 - D), foi constatado um ajuste somente para o ambiente com baixo estresse, por meio da equação $y = 221,23x^2 - 123,61x + 36,70$, com R^2 de 65,97 e ponto de máximo igual a 0,243 g de Bion L⁻¹, com valor médio de 95,66 milímetros. Para CR, observou-se ajuste para o ambiente de estresse mediano, com a equação $y = -331,91x^2 + 111,55x + 86,63$, com R^2 de 44,12% e valor médio de 85,50 milímetros (Figura 4.5.1 - E).

A aplicação de ASM mostra-se favorável para a manutenção dos índices iniciais de PCG, GER e PN, uma vez que atua diretamente no sistema de defesa vegetal e possibilita um desenvolvimento e crescimento inicial estável. Em relação ao nível de estresse, as plantas possuem a capacidade de suportar o efeito deletério até certo ponto, a partir do qual, mesmo com a aplicação de estimuladores do mecanismo de defesa não ocorre uma resposta satisfatória. Braga et al. (1999) ao avaliarem diferentes níveis de estresse hídrico na germinação de sementes de feijão, observaram que na faixa de -0,4 a -0,6 MPa houve redução no potencial de germinação, bem como na incidência de plântulas normais.

Figura 4.5.1. A - Primeira contagem de germinação (PCG), B - germinação (GER), C - plântulas normais (PN) e D - comprimento de parte aérea (CPA) e E – comprimento de raiz (CR) de sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico e submetidas a doses de acibenzolar-s-methyl (ASM).





Para corroborar com os resultados apresentados anteriormente nos gráficos de regressão, de acordo com a Tabela 4.5.2 pode se observar de forma detalhada a variação dos níveis de estresse em cada dosagem de ASM. Em relação às variáveis analisadas, aquelas relacionadas diretamente com o processo de germinação, ou seja a PCG, GER e PN, apresentaram respostas semelhantes, independente a dose em questão.

Tal padrão foi caracterizado por maiores médias em condições de estresse mais amenas, pois independente da dose e da variável o nível mais alto de estresse mostrou-se mais prejudicial para o desenvolvimento inicial das plântulas, ressaltando que mesmo com a aplicação da dosagem mais elevada não foi possível minimizar o efeito deletério sobre a PCG, GER e PN, mantendo as médias iguais estatisticamente quando comparada com os ambientes de estresse nulo, baixo ou moderado.

Machado Neto et al. (2006), ao analisarem o limite máximo de restrição hídrica, constataram que a partir de -1,2 MPa não ocorre a germinação de sementes. No presente estudo, verificou-se que a partir de -0,8 MPa houve influência negativa na germinação, mesmo com a aplicação de ASM.

As variáveis CPA e CR apresentaram oscilações similares nos tratamentos estipulados. Para a testemunha (Dose 0), observou-se tanto para a CPA quanto para CR uma variação inesperada entre os ambientes de acondicionamento, uma vez que aquele sem a presença de estresse não apresentou necessariamente as melhores médias de desenvolvimento sendo que este comportamento pode ser atribuído à variação de determinadas características (composição química, lesões físicas, presença de patógenos, etc.) dentro de um mesmo lote de sementes (Tabela 4.5.2).

Para CPA, verificou-se ainda que quando aplicada qualquer dosagem de ASM foi possível manter médias semelhantes à testemunha em condições de estresse baixas e/ou medianas, confirmando o efeito positivo do produto no desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-comum. Entretanto, assim como constatado para as variáveis anteriores, o nível mais elevado de estresse proporciona um efeito adverso de alta magnitude, o que impossibilita a manutenção de níveis adequados de crescimento vegetal.

O CR, em contrapartida, apresentou maior instabilidade em relação às dosagens de ASM nos diferentes níveis de estresse, pois nas doses 0, 0,6 e 0,13 g de Bion L⁻¹ não foi possível observar um padrão de desenvolvimento adequado nos ambientes com estresse nulo, baixo e/ou mediano. Porém, independente da dosagem avaliada, o resultado averiguado para o nível alto de estresse foi idêntico ao exposto anteriormente para as outras variáveis.

Coelho et al. (2010), ao avaliarem a relação entre raiz e parte aérea de plântulas de feijão, constataram uma influência dos potenciais hídricos sobre o desenvolvimento adequado destas variáveis. Estes autores verificaram que o maior crescimento das raízes em relação a parte aérea se deu em condições de -0,3 MPa, sendo que quando associado à presença de cálcio proporcionou benefícios ao desenvolvimento vegetal. Resultados semelhantes foram observados neste trabalho, uma vez que a aplicação de ASM proporcionou a manutenção dos valores iniciais até o nível crítico de estresse (Tabela 4.5.2).

Moraes e Meneses (2003), ao avaliarem o potencial fisiológico de sementes, também constataram influência do estresse hídrico sobre o desenvolvimento e crescimento de plântulas, bem como observaram que determinados potenciais hídricos atuam como um estímulo ao crescimento de raízes.

Tabela 4.5.2. Primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GER), plântulas normais (PN) e comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico e submetidas a doses de acibenzolar-s-methyl (ASM).

Estresse	Dose (ASM) g Bion L ⁻¹ de H ₂ O				
	PCG (%)				
	0,00 g	0,062 g	0,125 g	0,25 g	0,50 g
Nulo	87.75 A	87.00 A	88.00 A	86.00 A	84.00 A
Baixo	81.00 A	83.00 A	84.50 A	83.50 A	85.50 A
Médio	80.50 A	81.00 A	85.50 A	85.00 A	84.50 A
Alto	39.50 B	44.00 B	66.00 B	65.50 B	54.50 B
	GER (%)				
Nulo	94.25 A	91.75 A	92.75 A	91.00 A	92.00 A
Baixo	82.25 B	87.00 A	89.50 A	87.50 A	88.00 A
Médio	86.00 B	89.25 A	90.50 A	88.74 A	87.00 A
Alto	59.00 C	73.75 B	80.50 B	75.00 B	70.75 B
	Plântulas Normais (%)				
Nulo	84.75 A	85.00 A	84.50 A	81.75 A	82.50 A
Baixo	75.50 B	80.00 A	81.75 A	78.50 A	75.75 AB
Médio	80.50 AB	81.50 A	84.25 A	81.00 A	71.00 B
Alto	42.00 C	54.25 B	65.50 B	53.00 B	50.00 C
	Comprimento Parte Área (mm)				
Nulo	85.23 B	93.38 A	96.70 A	88.40 A	83.60 A
Baixo	125.12 A	84.70 A	99.53 A	76.55 A	92.40 A
Médio	77.55 B	88.83 A	101.78 A	77.48 A	83.93 A
Alto	42.71 C	43.65 B	44.44 B	51.90 B	49.70 B
	Comprimento Raiz (mm)				
Nulo	94.60 A	106.85 A	103.88 AB	96.98 A	89.20 A
Baixo	91.17 AB	80.75 B	96.78 B	77.58 AB	93.23 A
Médio	73.63 B	99.90 AB	117.50 A	73.58 B	62.88 B
Alto	29.79 C	36.96 C	52.40 C	38.74 C	37.54 C

Letras maiúsculas distintas na coluna diferem-se entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ressalta-se que, diferente das variáveis fitométricas, as bioquímicas não apresentaram resposta à interação E x D, e sim significância de maneira isolada às fontes de variação. Para os níveis de estresse, foi verificado para as proteínas (Figura 4.5.2 – A) um incremento na concentração conforme elevou-se a restrição hídrica, sendo que a maior discrepância foi constatada entre a testemunha e o ambiente de -0,8 MPa.

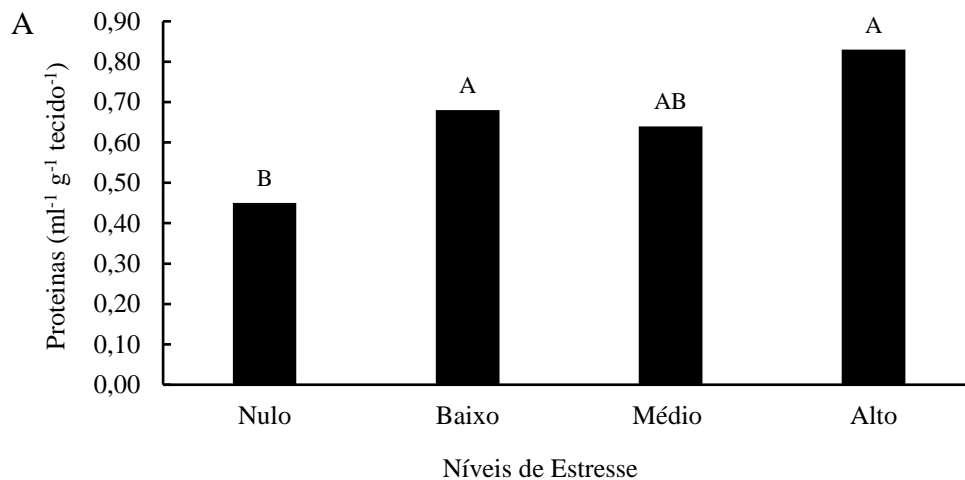
Santos et al. (2007) ao avaliarem o teor de proteína em genótipos de feijão-caupi observaram um aumento em sua concentração quando submetidos ao estresse hídrico. Estes autores atribuem tal efeito a alteração do potencial osmótico celular por meio do acúmulo de metabólicos e elevação dos solutos intracelulares, o que tende a evitar a perda de água para o meio. Aliado a este fator, Taiz et al. (2017) relatam que com o aumento dos níveis de estresse

ocorre uma elevação dos componentes do mecanismo de defesa, o que inclui as proteínas protetoras.

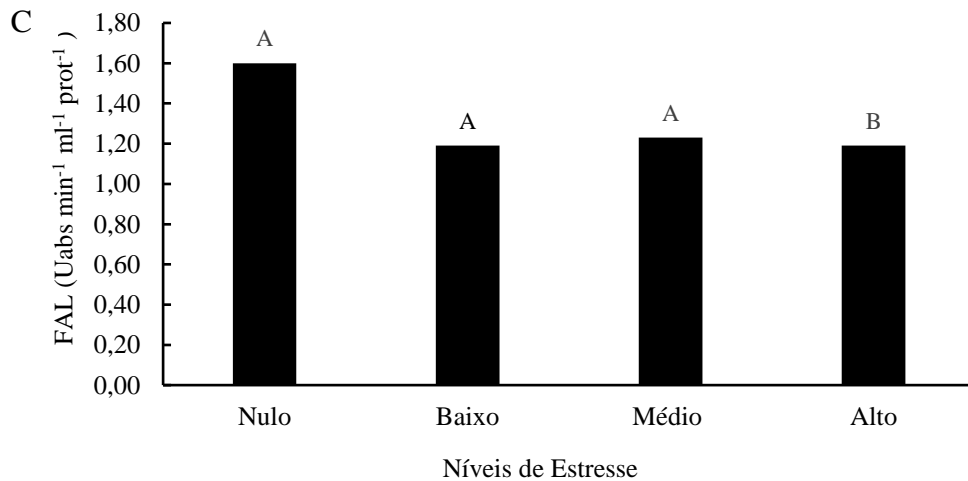
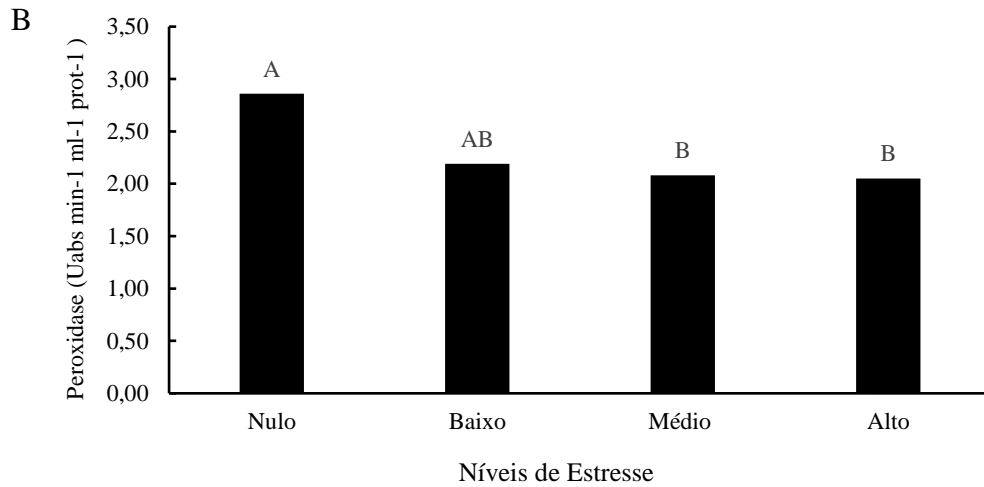
Em contrapartida, as concentrações de peroxidase (Figura 4.5.2 – B) e fenilalanina amônia liase (Figura 4.5.2 – C) apresentam um padrão oposto ao exposto pelas PROT, sendo que para estas variáveis as maiores concentrações foram observadas nos ambientes com níveis de estresse inferiores.

Este comportamento pode ser explicado pelas variações das expressões de proteínas nas plantas, pois dependendo do estímulo presente no ambiente pode ocorrer a inibição de determinadas rotas de biossíntese. Logo, a maior demanda de proteínas para a formação de determinada enzima, a ponto de aumentar sua concentração, pode inibir a formação de outras que competem pelo mesmo substrato (GHOSH et al., 2001; CAVALCANTE et al., 1999; HOWE et al., 1996).

Figura 4.5.2. Concentrações de A - proteínas (PROT), B - peroxidase (PER) e C - fenilalanina amônia liase (FAL) em sementes de feijão-comum do grupo carioca acondicionadas em ambientes com diferentes níveis de estresse hídrico.



Continuação da Tabela 4.5.2.



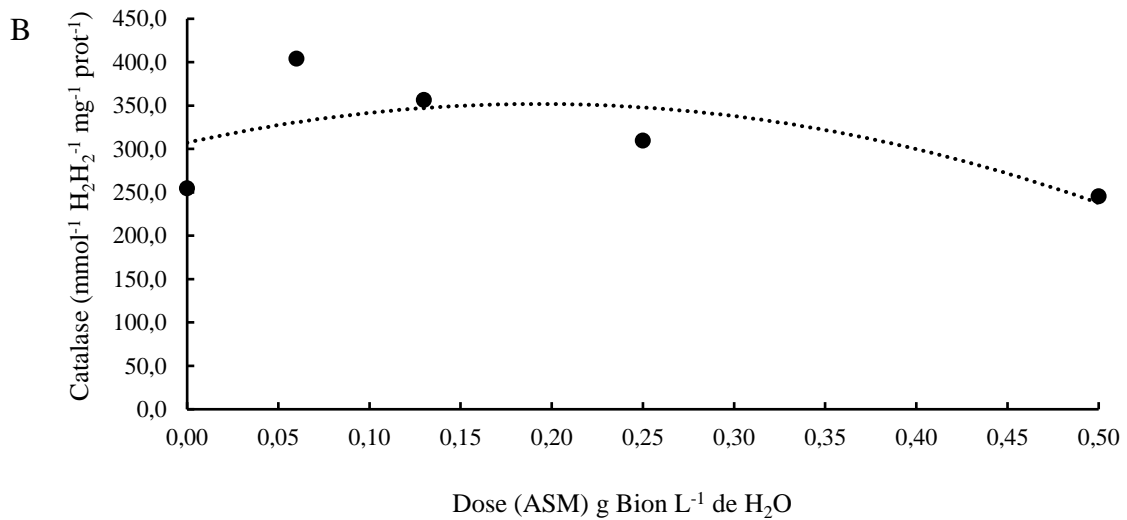
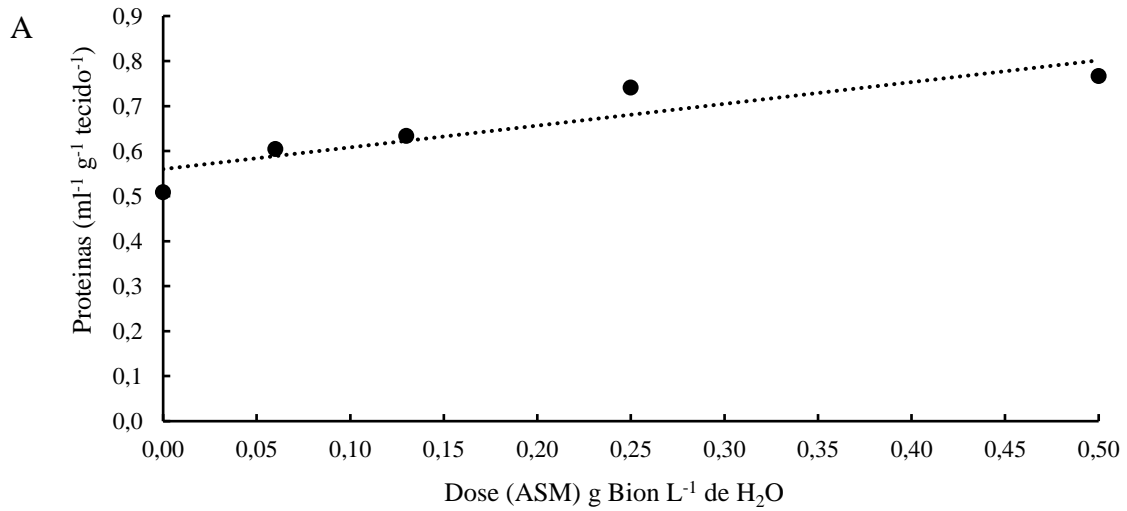
Letras maiúsculas distintas diferem-se entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação a resposta da atividade bioquímica em detrimento as diferentes doses de ASM, foram constatados variações nas concentrações dos compostos, uma vez que cada um apresentou um ajuste distinto (Figura 4.5.3). Para as PROT, observou-se um ajuste polinomial linear crescente, por meio da equação $y = 0,4834x + 0,5599$, com R^2 de 82,34%, e com concentração de $0,65 \text{ ml}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ tecido}^{-1}$ (Figura 4.5.3 – A). A CAT, por sua vez, ajustou-se a uma curva de segundo grau, $y = -1206,6x^2 + 464,03x + 307,22$, com R^2 de 46,33%, com ponto de máximo igual a $0,192 \text{ g de Bion L}^{-1}$ e concentração média de $314,10 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{H}_2^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot}^{-1}$ (Figura 4.5.3 – B).

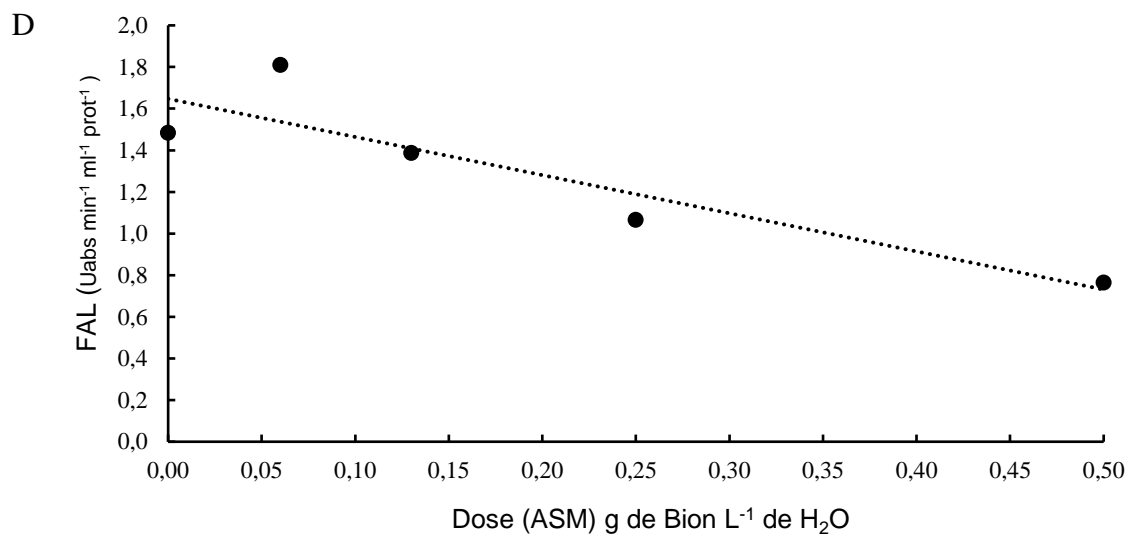
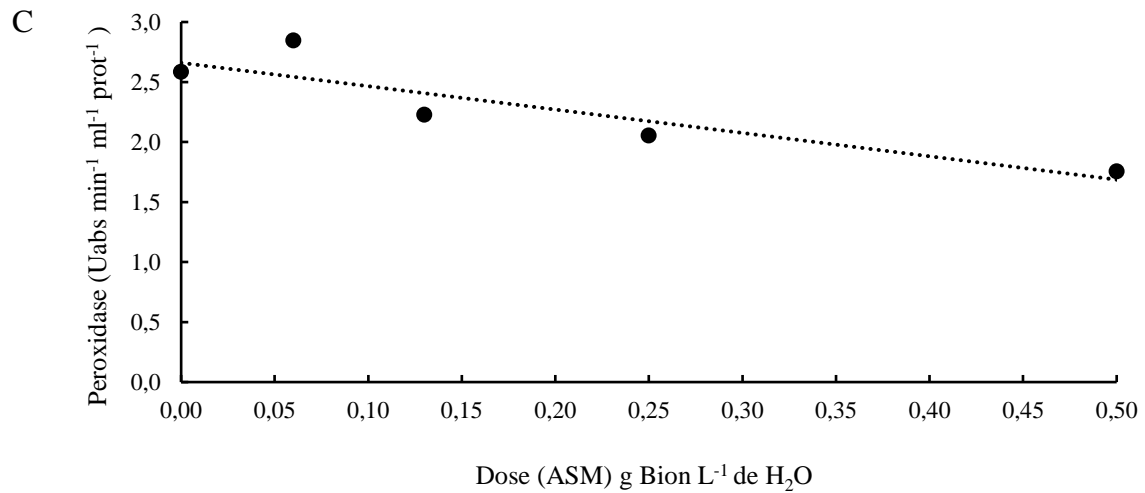
Diferente dos compostos anteriores, a PER (Figura 4.5.3 – C) e a FAL (Figura 4.5.3 – D) apresentaram ajustes polinomiais lineares decrescentes, sendo que para o primeiro obteve-se por meio da equação $y = -1,9471x + 2,6599$, com R^2 de 79,98 e concentração média

de 2,29 Uabs min⁻¹ ml⁻¹ prot⁻¹ e, para o segundo, de acordo com $y = -1,8328x + 1,6472$, com R² de 81,70 e concentração média de 1,30 Uabs min⁻¹ ml⁻¹ prot⁻¹.

Figura 4.5.3. Concentrações de A - proteínas (PROT), B - catalase (CAT), C- peroxidase (PER) e D - fenilalanina amônia liase (FAL) em sementes de feijão-comum do grupo carioca em relação a diferentes doses de acibenzolar-s-methyl.



Continuação Figura 4.5.3.



O ASM pode atuar como um agente regulador no processo de resistência das plantas contra intempéries, uma vez que este composto é precursor do ácido salicílico (AS), componente atuante no metabolismo secundário vegetal (PASCHOLATE et. al, 2010), assim sendo, a utilização de ASM no tratamento de sementes pode contribuir para o fortalecimento de mecanismos de prevenção a agentes deteriorantes.

O aumento da concentração de ASM no organismo vegetal pode incrementar a síntese de substâncias favoráveis ao combate ao estresse abiótico, presentes no metabolismo secundário. As proteínas, por sua vez, são compostos que atuam no processo de formação de

enzimas com potencial antioxidante (TAIZ et al., 2017), como por exemplo a CAT, capazes de degradar o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) presente no meio intracelular vegetal (MUNNÉ-BOSH et al., 2013; HALLIWELL et al., 2000).

De acordo com os resultados apresentados, a relação entre proteína e catalase foi positiva conforme elevou-se a dosagem de ASM (Figura 4.5.3 – B), ou seja, na dosagem ideal pode ocorrer uma maior síntese proteica que resulta em uma maior produção de enzimas de defesa, neste caso a CAT. Entretanto, tal padrão não foi observado para as demais substâncias analisadas, uma vez que quanto maior a dose de ASM menor a concentração de PER e FAL. Este fenômeno pode ser atribuído aos mesmos fatores expostos anteriormente.

4.6. CONCLUSÕES

A aplicação de ASM no tratamento de sementes beneficia a manutenção dos níveis iniciais de PCG, GER e PN. O CPA e CR, porém não foi possível identificar a melhor dose para cada nível de estresse de forma individual.

A dose de 0,125 gramas de Bion por litro de água é suficiente para a manutenção do potencial fisiológico de sementes de feijão-comum nos níveis de estresses avaliados.

A partir de -0,8 MPa o potencial fisiológico original das sementes diminui, mesmo com a aplicação de ASM.

Os níveis de proteínas e da enzima catalase são elevados com o aumento da restrição hídrica, bem como com a aplicação de ASM. Não foi possível determinar a melhor dose para elevar o nível proteico, porém para a CAT a dose ideal foi de 0,192 gramas de Bion por litro de água.

Os teores de PER e FAL diminuem conforme se eleva os níveis de estresse hídrico e a dosagem de ASM.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of mayze seedlings. **Plant Physiology**, v.109, p.1247- 1257, 1995.

BOSTOCK, R.M.; KARBAN, R.; THALER, J.S; WEYMAN, P. D.; GILCHRIST, D. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p., 103-111, 2001.

- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; BRAGA, J. F.; SÁ, M. E. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 95-102, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de Sementes**. Brasília - DF: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 365p. 2009.
- CAVALCANTE, A.P.R.; JACINTO, T.; MACHADO, O.L.T. Methyl jasmonate changes the levels of rubisco and other proteins in *Ricinus communis*. **ACTA Physiologiae Plantarum**, v. 21, p. 161-166, 1999.
- CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-s-metil na indução de resistência à murcha-de-verticillium em cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 67-71, 2004.
- CIAT - International Center for Tropical Agriculture. **About Beans**. Colômbia, 2015. Disponível em: <<https://ciat.cgiar.org/crops/bean>>. Acesso em 25 jun. 2017.
- COELHO, D. L. M.; DE AGOSTINI, E. A. T.; GUABERTO, L. M.; NETO, N. B. M.; CUSTODIO, C. C. C. Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.3, p. 491-499, 2010.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de Feijão**. ESALQ/USP. 2007.
- FELIPE, R. T. A.; OLIVEIRA, J. A.; LEÃO, G. A. Potencial de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. **Revista Árvore**, v. 33, p. 245-254, 2009.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Universidade Federal de Viçosa: Empresa Júnior de Agronomia, 2006, 412p.
- GHOSH, S.; MAHONEY, S.R.; PENTERMAN, J.N. Ultrastructural and biochemical changes in chloroplasts during *Brassica napus* senescence. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 39, 777-784, 2001
- HALLIWELL, B.; CLEMENT, M. V.; LONG, L. H. Hydrogen peroxide in the human body. **Febs Letters**, v. 486, n. 1, p. 10-13, 2000.
- HOWE, G.A.; LIGHTNER, J.; BROWSE, J.; RYAN, C.A. An octadecanoid pathway mutant (JL5) of tomato is compromised in signaling for defense against insect attack. **The Plant Cell**, v. 8, p. 2067-2077, 1996.
- KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

- LISAR, S.Y.S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M.M.; RAHMAN, I.M.M. **Water stress in plants: causes, effects and response**. In RAHMAN, I.M.M., Water Stress, Rijeka: INTECH, p.1-14, 2012.
- LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v.25, p.244-249, 1999.
- MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C.; COSTA, P. R.; DONÁ, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 142-148, 2006.
- MATTA, F.M. DA; CHAVES, A.R.M.; PINHEIRO, H.A.; DUCATTI, C.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, v.164, n.1, p. 111-117, 2003.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.
- MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 219-226, 2003.
- MUNNÉ-BOSH, S.; QUEVAL, L.; FOYER, C.H. The impact of global change factors on redox signaling underpinning stress tolerance. **Plant Physiology**, v.161, n.1, p. 5-19, 2013.
- NASCIMENTO, S. P. do; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. D. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.
- OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.
- PASCHOLATI, S.F; BLUMER, S.; REZENDE, D.C.; BRAND, S.C. Indução de resistência novos conceitos e aplicações. **Anais do X Simpósio de Controle de Doenças em Plantas e V Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas**. Lavras, MG, 2010.
- SANTOS SOARES, A. M.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n.1, p.10, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGUER, E.; MOLLER, M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

5 ARTIGO C – ACIBENZOLAR-S-METHYL NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-COMUM DOS GRUPOS PRETO E CARIOCA SUBMETIDOS AO DEFICIT HÍDRICO

5.1 RESUMO

Minimizar o efeito deletério que constantemente atua sobre lavouras comerciais tornou-se um dos principais objetivos quando se visa a manutenção do elevado potencial produtivo. O estresse hídrico é considerado um dos principais limitantes para o desenvolvimento vegetal, portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de acibenzolar-s-methyl no tratamento de sementes sobre o desenvolvimento vegetativo e atividade fisiológica de plantas de feijão-comum. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 (IPR Uirapuru, IPR Curió, IPR Galha e IPR Campos Gerais) x 2 (com e sem restrição hídrica) x 2 (acibenzolar-s-methyl (ASM) e equivalente em água), com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. O tratamento de sementes com ASM reduziu o estágio vegetativo do feijoeiro, assim como o número de vagens, sendo que plantas cultivadas com restrição hídrica emergiram de forma tardia, e sinalizaram uma redução na concentração de clorofila b. Os genótipos IPR Curió e Uirapuru apresentaram menor fase vegetativa quando submetidos ao estresse hídrico. A aplicação de ASM no tratamento de sementes resultou na redução da área foliar total de plantas durante o florescimento e, quando associado à restrição hídrica, apresentou os menores índices. Por fim, de acordo com a intensidade da condutância estomática foi possível mensurar o estresse fisiológico das plantas, sendo que este oscilou conforme o genótipo, o nível de estresse e a aplicação de ASM.

Palavras-chave: Estresse fisiológico. Condutância estomática. Clorofila. *Phaseolus vulgaris* L.

5.2 ABSTRACT

Minimizing the harmful effect that constantly affects commercial crops has become one of the main objectives when aiming at maintaining the high productive potential. Water stress is considered one of the main limitations for plant development, therefore, the objective of the work was to evaluate the effect of applying acibenzolar-s-methyl (ASM) in the treatment of seeds on the vegetative development and physiological activity of common bean plants. The experiment was conducted in a greenhouse, with a completely randomized design, in a factorial scheme 4 (IPR Uirapuru, IPR Curió, IPR Galha and IPR Campos Gerais) x 2 (with and without hydraulic restriction) x 2 (ASM and water equivalent), with four replications, totaling 64 experimental units. The treatment of seeds with ASM reduced the vegetative stage of beans, as well as the number of pods, and plants cultivated with water restriction emerged late, and signaled a reduction in the concentration of chlorophyll b. The genotypes IPR Curió and Uirapuru showed less vegetative phase when subjected to water stress. The application of ASM in the treatment of seeds resulted in the reduction of the total leaf area of plants during flowering and, when associated with water restriction, presented the lowest indexes. Finally, according to the intensity of stomatal conductance, it was possible to measure the physiological stress of the plants, which fluctuated according to the genotype, the level of stress and the application of ASM.

Keywords: Physiological stress. Stomatal conductance. Chlorophyll. *Phaseolus vulgaris* L.

5.3 INTRODUÇÃO

O feijoeiro caracteriza-se por apresentar uma ampla adaptabilidade, o que possibilita o cultivo em regiões e safras distintas (das águas, da seca, terceira safra). De maneira geral, possui ciclo curto, arquitetura compacta e raízes pouco profundas, o que gera alta demanda de água, sendo a sua disponibilidade considerada um fator limitante (FILGUEIRA, 2006; FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

A cultura possui baixa tolerância a condições de estresse hídrico, seja pelo excesso ou déficit, sendo este um dos problemas constatados frequentemente no ambiente de cultivo. Quando em deficiência hídrica, o feijoeiro reduz a taxa fotossintética e a translocação de fotoassimilados, além de apresentar decréscimo na condutância estomática, o que resulta em alteração nos estádios fisiológicos, queda do rendimento e da qualidade final do produto (GONÇALVES, 2013; ASHRAF; HARRIS, 2013).

Vale et al. (2012) observaram que o estresse hídrico provocou alteração na duração dos estádios fisiológicos do feijoeiro, constatado por meio da emissão prematura dos botões florais. Guimarães et al. (2011), ao avaliarem os componentes de produção de feijão-comum submetidos ao déficit hídrico, verificaram redução de produtividade, sendo esta variável conforme o genótipo.

Neste contexto, a aplicação de técnicas que visam atenuar o efeito deletério do déficit hídrico mostram-se viáveis, como a aplicação de produtos que induzem a resistência em plantas cultivadas. O acibenzolar-s-methyl (ASM) figura como um composto sintético, de baixa toxicidade e capaz de ativar a resistência sistêmica adquirida (RSA), caracterizada como um conjunto de respostas bioquímicas atuantes no combate a agentes estressantes (OOSTENDORP et al., 2001; HAMMERSCHMIDT et al., 2001).

A aplicabilidade do ASM existe por este atuar como um precursor da cadeia produtora do ácido salicílico (AS), um hormônio do metabolismo secundário responsável pela defesa vegetal. A ação baseia-se na ativação de enzimas antioxidantes atuantes na eliminação de radicais livres, sendo a catalase, superóxido desmutase, fenilalanina amônia liase e ascorbato peroxidase os destaques (FELIPE et al., 2009; MITTLER, 2002).

Sua eficiência é comprovada no combate ao estresse oxidativo causado por fitopatógenos, porém sabe-se pouco sobre o efeito proveniente de agentes abióticos, como o déficit hídrico. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de

acibenzolar-s-methyl no tratamento de sementes sobre o desenvolvimento vegetativo e atividade fisiológica de plantas de feijão-comum.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Estadual de Londrina, com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2x2, com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. As fontes de variação foram compostas por quatro genótipos (IPR Uirapuru, IPR Curió, IPR Gralha e IPR Campos Gerais), dois níveis de disponibilidade hídrica (com e sem restrição) e dois tratamentos de sementes (acibenzolar-s-methyl (ASM) e equivalente em água).

As sementes foram obtidas de plantas cultivadas em casa de vegetação, de acordo com as recomendações para a cultura, com o intuito de padronizar a qualidade dos lotes iniciais. Foram utilizados vasos plásticos com capacidade de oito litros, preenchidos com substrato composto por areia e casca de arroz (1:1) até atingirem o peso de cinco quilos. Em seguida, semeou-se cinco sementes por unidade experimental e, após as plantas atingirem o estágio V3, foi realizado o raleio, mantendo duas plantas saudáveis.

As disponibilidades hídricas foram determinadas de acordo com a capacidade máxima de retenção de água do substrato (CMRA), sendo que os tratamentos com e sem restrição de água foram 50 e 70% da CMRA, respectivamente. Estes valores foram mantidos por meio da pesagem diária de vasos testemunha (VT - sem planta), seguindo a equação:

$$LA = CRA_{50/70} - (\sum PVT/NVT)$$

LA: Lâmina de água aplicada (mm);

CRA: Capacidade de retenção de água (%);

PVT: Peso de vaso testemunha (g);

NVT: Número de vaso testemunha.

O valor obtido foi extrapolado para as unidades experimentais, porém após o estágio V3 adicionou-se à pesagem dos VT três vasos com e sem restrição hídrica, visando somar a estimativa do consumo diário de água das plantas à lâmina média de água aplicada. O regime de restrição hídrica foi mantido até o florescimento, sendo padronizado, posteriormente, a 70% da CMRA, para todos os tratamentos, até o final do ciclo.

Em relação a aplicação de ASM, utilizou-se a dose de 0,125 g L⁻¹ de Bion[®] kg⁻¹ de sementes, aplicada no momento da semeadura junto a adição de pó secante, com a finalidade de cobrir de forma homogênea a superfície das sementes. Em contrapartida, para os tratamentos isentos da presença do produto, aplicou-se o equivalente da calda em água destilada para cada kg⁻¹ de sementes. Neste contexto, avaliou-se:

Dias para emergência (DPE) e para florescimento (DPF): número de dias da semeadura até a emergência e antese do botão floral, respectivamente;

Número de vagens (NV) e Massa de mil sementes (MMS): número de vagens e massa de sementes médias de plantas por vaso;

Área foliar total no florescimento (AFT - FT): mensurado a área foliar de todas as folhas completamente expandidas, sendo o resultado expresso em cm².

Clorofila A (CLO-A), B (CLO-B) e Caroteinoide (CAR): determinação dos teores de pigmentação em tecido vegetal fresco coletado no estágio de florescimento, baseando-se na metodologia adaptada por Barbosa et al. (2017).

Condutância Estomática (CE): efetuou-se por meio da utilização de um porômetro em estado de equilíbrio dinâmico (Steady Porometer, LI-1600/LICOR[®]) aferições diretas de condutância estomática. As avaliações foram realizadas no estágio do florescimento, no terço superior das plantas. Realizaram-se as leituras no período da manhã, entre as 10 e 14 horas, no qual constata-se alta incidência de radiação solar.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Hartley), e atendido aos pressupostos, à análise de variância a 5% de probabilidade.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o quadro de análise de variância (Tabela 5.5.1), observou-se que todas as variáveis, exceto a clorofila A (CLO-A) e os carotenoides (CAR), foram responsivas a pelo menos uma fonte de variação. De forma isolada, foi verificado que área foliar total no florescimento (AFT-FL), massa de mil sementes (MMS) e número de vagens (NV) oscilaram de acordo com os genótipos (G) avaliados, enquanto os dias para emergência (DPE) e NV variaram conforme o tratamento de sementes (T), sendo que, por fim, a clorofila B (CLO-B) e NV responderam às variações resultantes dos níveis de estresse (E).

Tabela 5.5.1. Análise de variância com valores dos quadrados médios para as características dias para emergência (DPE), dias para florescimento (DPF), área foliar total - florescimento (AFT-FL), condutância estomática - florescimento (CE-FL), clorofila A (CLO-A), clorofila B (CLO-B), carotenoides (CAR), número de vagens por planta (NV), massa de mil sementes (MMS) e concentração de ácido salicílico (AS) de genótipos de feijão-comum submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.

Fontes de Variação	DPE	DPF	AFT-FL	CE-FL	NV	MMS	CLO-A	CLO-B	CAR
Genótipo (G)	0,266 ^{ns}	34.766**	226504.669**	28877.686**	20.542*	8018.656**	16,151 ^{ns}	313,795 ^{ns}	5,468 ^{ns}
Tratamento (T)	0,390 ^{ns}	5.641**	582665.056**	9712,103 ^{ns}	72.250**	2209,235 ^{ns}	72,505 ^{ns}	17,703 ^{ns}	0,975 ^{ns}
Estresse (E)	3.516*	15.016**	385575.798**	116716.181**	42.250*	226,277 ^{ns}	8,585 ^{ns}	1363.717*	10,208 ^{ns}
G x T	0,641 ^{ns}	0,807 ^{ns}	13291,865 ^{ns}	18598.527*	4,625 ^{ns}	1932,240 ^{ns}	30,869 ^{ns}	360,752 ^{ns}	2,226 ^{ns}
G x E	0,432 ^{ns}	3.516**	20842,261 ^{ns}	7086,121 ^{ns}	2,542 ^{ns}	2075,267 ^{ns}	10,716 ^{ns}	120,668 ^{ns}	9,913 ^{ns}
T x E	0,141 ^{ns}	0,016 ^{ns}	134115.257*	146000.410**	9,000 ^{ns}	473,715 ^{ns}	11,834 ^{ns}	173,317 ^{ns}	0,397 ^{ns}
G x T x E	1,057 ^{ns}	0,932 ^{ns}	41635,927 ^{ns}	27878.649**	13,042 ^{ns}	2151,715 ^{ns}	30,226 ^{ns}	320,593 ^{ns}	3,274 ^{ns}
Resíduo	0,380	0,693	20193,065	6363,295	6,125	1535,240	26,178	195,736	10,205
Média	6,23	44,52	504,22	379,32	7,56	271,11	16,74	27,526	7,942
CV (%)	9,23	1,87	28,18	21,03	32,73	14,45	30,56	50,83	40,22

**significativo à 1% pelo teste F ($p < 0,01$); *significativo à 5% pelo teste F ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); CV: coeficiente de variação.

De acordo com as interações, primeiramente foi observado para G x E resposta apenas da variável DPF, assim como para T x E, na qual somente a AFT-FL oscilou. Destaca-se que o coeficiente de variação (CV) das variáveis de campo mantiveram-se inferior a 30%, índice adequado para esta classe, enquanto as de âmbito laboratorial figuraram na faixa inferior a 50%, sendo esta compatível com a natureza das análises.

Em um primeiro momento, de forma isolada, foi possível observar que para genótipos a AFT-FL avaliada foi superior nas cultivares IPR Campos Gerais e IPR Gralha, com médias de 558,38 e 646,28 cm², respectivamente. Em relação a MMS, verificou-se que a cultivar IPR Uirapuru apresentou semente com maior massa, 297,05 gramas, em detrimento àquelas referentes a IPR Curió e Gralha. Por fim, para NV foi constatado diferença estatística apenas entre a cultivar IPR Gralha e a IPR Uirapuru, sendo referente a primeira o valor médio de 9,13 e para a segunda o de 6,44 vagens (Tabela 5.5.2).

Quando se aborda avaliações relacionadas a genótipos cultivados no mesmo ambiente, a maior parte das discrepâncias verificadas entre os materiais ocorre devido a carga genética que cada um possui. Este fator possibilita mensurar o desempenho individual e projetar em quais condições o máximo potencial de rendimento será atingido, assim como Euzébio et al. (2018), ao avaliarem a estabilidade e adaptabilidade de cultivares de feijão-comum do grupo carioca, verificaram a existência da influência ambiental sobre o rendimento final da cultura.

Em relação ao tratamento de sementes com ASM, observou-se que plantas oriundas de sementes tratadas floresceram um dia antes quando comparadas com aquelas que não foram beneficiadas, com valores médios de 44 e 45 dias, respectivamente. Para NV, foi possível constatar que as plantas de sementes tratadas produziram um menor número médio de vagens, 6,50, em comparação as demais, com 8,63.

As plantas possuem rotas metabólicas nas quais são destinados os fotoassimilados produzidos, sendo que estas repartem os produtos sintetizados de acordo com a demanda de cada, definida pelos estímulos emitidos por sinalizadores. As rotas podem ser divididas em metabolismo primário, responsável diretamente pelo crescimento e desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas, e o secundário, referente aos mecanismos de defesa vegetal (TAIZ et al., 2017).

Neste contexto, o ASM atua como um sinalizador para a produção de ácido salicílico (AS), hormônio atuante no processo de defesa vegetal, que por sua vez relaciona-se com a produção de enzimas de combate ao estresse oxidativo. Assim sendo, as sementes tratadas com ASM tendem a ativar em níveis mais elevados a produção de AS, aumentando a concentração de fotoassimilados no metabolismo de defesa (COSTA et al., 2016), o que pode

resultar em um encurtamento do ciclo de vida vegetal, bem como redução na emissão de novos órgãos, conforme verificado pelas variáveis DPF e NV (Tabela 5.5.2).

Para os níveis de estresse, observou-se um menor tempo necessário para emergir (DPE) para os tratamentos sem estresse, encurtando o período em um dia. A concentração de CLO-B e o NV por sua vez, apresentaram maiores níveis nos ambientes sem estresse, com valores médios de 32,15 mg g⁻¹ e 8,38 vagens, respectivamente (Tabela 5.5.2).

Tabela 5.5.2. Dias para emergência (DPE), dias para florescimento (DPF), área foliar total - florescimento (AFT-FL), clorofila B (CLO-B), carotenoides (CAR), número de vagens por planta (NV) e massa de mil sementes (MMS) de genótipos de feijão-comum submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.

Genótipos			
	AFT-FL (cm ²)	MMS (g)	NV(num)
IPR Uirapuru	413,32 B	297,05 A	6,44 B
IPR Curió	398,90 B	259,29 B	7,19 AB
IPR Gralha	646,28 A	246,86 B	9,13 A
IPR Campos Gerais	558,38 A	281,25 AB	7,50 AB
Tratamento			
	DPF(dias)	NV(num)	
Com	44,00 B	6,50 B	
Sem	45,00 A	8,63 A	
Estresse			
	DPE(dias)	CLO-B (mg g ⁻¹)	NV (num)
Com	7,00 A	22,91 B	6,75 B
Sem	6,00 B	32,14 A	8,38 A

Para genótipos, letras maiúsculas distintas na coluna diferem-se entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e, para tratamento e estresse, letras maiúsculas distintas na coluna diferem-se pelo teste F.

Quando se avalia o teor de clorofila nas folhas de plantas submetidas ao estresse hídrico, duas possibilidades são encontradas. A primeira refere-se ao aumento da concentração desses pigmentos como forma de manter a atividade fotossintética mesmo em condições adversas, como foi verificado por Melo et al. (2018) que ao avaliarem o déficit hídrico em genótipos de feijão *Vigna*, observam um aumento no teor de clorofila B em plantas cultivadas com restrição hídrica.

Entretanto, a segunda opção, que resulta na redução dos teores destes pigmentos, conforme observado na Tabela 5.5.2, ocorre com maior frequência, pois quando em estresse, as plantas sofrem uma desregulação das rotas metabólicas, com reflexo na síntese de novas substância, incluindo a clorofila B. Taiz et al. (2017) e Liu et al. (2011) verificaram que

algumas plantas possuem a tendência de reduzir a concentração de clorofila em condições de estresse hídrico por meio da degradação de moléculas associadas à restrição de sua síntese.

A variável DPF, por sua vez, também apresentou resposta para a interação genótipos e níveis de estresse, como pode ser observado na Tabela 5.5.3. Assim sendo, a cultivar IPR Curió foi a mais precoce, independente a condição de estresse, com valor médio de 43 dias para ambientes com restrição hídrica e 41 para aqueles isentos.

Quando comparados os ambientes de cultivo, constatou-se que os genótipos IPR Curió e IPR Uirapuru apresentaram o florescimento mais tardio em condições de 50% de CMRA, enquanto o IPR Galha e IPR Campos Gerais não diferiram estatisticamente quando comparados os regimes de disponibilidade hídrica, entretanto, com 70% da CMRA mantida, a cultivar IPR Galha teve o ciclo mais alongado, com 45 dias.

Em situações adversas, as plantas tendem a alterar a duração do seu ciclo de vida com o intuito de garantir a sobrevivência da espécie. Este fenômeno pode ser observado, uma vez que parte dos genótipos testados tiveram seu florescimento retardado em situação de estresse, enquanto os demais mantiveram-se estáveis. Ashraf e Foolad (2007) expuseram que plantas submetidas ao estresse hídrico alteram seus processos metabólicos por meio da ativação de uma série de mecanismos de resistência, como forma de tolerar as adversidades.

Fernandes (2012) e Esposti (2013), ao estudarem a relação hídrica dos vegetais, definiram que as repostas das plantas ao estresse hídrico variam de forma negativa e estão relacionadas com a duração e intensidade do estresse, do genótipo, do estágio de desenvolvimento e os demais fatores ambientais.

Com relação a AFT-FL, observou-se que plantas sem tratamento e cultivadas em ambiente isento de restrição hídrica apresentaram um maior valor médio de área foliar, com 723,03 m², quando comparado a plantas provenientes de sementes tratadas e cultivadas em condição favorável, bem como aquelas sem tratamento e submetidas a restrição de água. Quando este fator tem início durante a emergência das plântulas e estende-se até o florescimento, constata-se uma redução exacerbada da área foliar, uma vez que os tecidos vegetais entram em estado de murcha, além de diminuir a taxa fotossintética (SOUZA et al., 2013)

Tabela 5.5.3. Dias para florescimento (DPF) em relação a interação entre genótipos e os níveis de estresse e área foliar total no florescimento (AFT-FL) de acordo com a interação entre tratamento de sementes e níveis de estresse.

DPF(dias)		
Genótipos	Estresse	
	Com	Sem
IPR Uirapuru	45,00 Aa	44,00 Bb
IPR Curió	43,00 Ba	41,00 Cb
IPR Gralha	45,00 Aa	45,00 Aa
IPR Campos Gerais	45,00 Aa	45,00 Ba
AFT-FL (cm ²)		
Tratamento	Estresse	
	Com	Sem
Com	376,96 Aa	440,64 Ba
Sem	476,24 Ab	723,03 Aa

Para genótipos e estresse letras maiúsculas distintas na coluna diferem-se entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e minúsculas distintas nas linhas pelo teste F. Para tratamento e estresse, letras maiúsculas distintas na coluna e letras minúsculas na linha diferem-se pelo teste F.

Plantas cultivadas em locais livres de adversidades possuem a capacidade de atingir seu máximo desenvolvimento, resultante da atividade metabólica plena. Quando aplicado ASM no tratamento de sementes, um estímulo tende a ativar o redirecionamento de parte das substâncias fotossintetizadas para o metabolismo de defesa vegetal, principalmente para a síntese de enzimas de defesa, que aparentemente não possuem função direta no crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ et al., 2017).

Neste sentido, a CE figura como um parâmetro capaz de estimar a atividade fisiológica das plantas cultivadas, por meio da mensuração da concentração potencial de água emitida dos estômatos para o ambiente. Na Tabela 5.5.4, pode se observar a variação das taxas de condutância estomática em relação à variabilidade de cultivares, níveis de estresse e tratamento de sementes com ASM.

Ao analisar o comportamento dos genótipos, foi verificado que o IPR Curió e o IPR Gralha apresentaram os maiores níveis de CE, com 606,96 e 480,71 mmol m⁻² s⁻¹, respectivamente. Para estresse entre os tratamentos, observou-se que apenas as plantas de IPR Curió oriundas de sementes tratadas e semeadas em ambiente sem restrição hídrica, bem como aquelas referentes ao IPR Uirapuru provenientes de sementes não tratadas e semeadas em condição de restrição hídrica proporcionaram menores níveis de CE, com 284,81 e 229,62 mmol m⁻² s⁻¹.

Tabela 5.5.4. Condutância estomática de genótipos de feijão-comum dos grupos carioca e preto submetidas ao tratamento de sementes com acibenzolar-s-methyl (ASM) em ambiente com e sem estresse hídrico.

Genótipos	Condutância Estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			
	Tratamento			
	Com		Sem	
	Estresse		Estresse	
	Com	Sem	Com	Sem
IPR Uirapuru	347,14 AaA	336,45 AaA	229,62 AbB	392,74 BaA
IPR Curió	455,26 AaA	284,31 AbB	374,68 AaB	606,96 AaA
IPR Galha	369,00 AaA	400,19 AaA	257,68 AaB	480,71 ABaA
IPR Campos Gerais	316,83 AaA	426,82 AaA	342,70 AaA	448,00 BaA

Maiúscula compara genótipos dentro de cada nível de tratamento e estresse pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; Minúscula compara o estresse entre tratamento pelo teste F a 5% de probabilidade; Maiúscula itálica compara estresse dentro de tratamento pelo teste F a 5% de probabilidade.

Por fim, para as unidades de variância referentes ao estresse dentro de cada nível de tratamento, foi constatado que, para as plantas de sementes tratadas, somente o IPR Curió cultivado sem restrição hídrica diferiu dos demais, enquanto para a situação sem tratamento, apenas o IPR Campos Gerais manteve o índice de CE com a variação de estresse, sendo que os demais apresentaram maior CE em condições isenta de estresse (Tabela 5.5.4).

A CE pode ser alterada por diversos fatores que influenciam diretamente o comportamento estomático do feijoeiro, sendo o estresse hídrico um deles. Oliveira et al. (2005), ao avaliarem a condutância estomática de plantas de feijão submetidas a regimes de irrigação distintos durante o florescimento, observaram uma variação de 69,80 a 122,00 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valores inferiores aos encontrados neste experimento.

Associado a diversas respostas metabólicas, o déficit hídrico atua no fechamento estomático e, conseqüentemente, reduz a absorção de dióxido de carbono e altera a CE vegetal (SOUSA; SOUSA, 2017). Como resposta, ocorre um menor consumo de equivalentes redutores, como o NADPH, o que gera um acúmulo destas moléculas, redirecionando assim alguns processos metabólicos (SELMAR; KLEINWACHTER, 2013).

Nascimento et al. (2011), ao avaliarem o comportamento de diferentes cultivares de feijão-caupi, observaram que há variabilidade na condutância estomática em plantas cultivadas em condições semelhantes, ressaltando a influência genética nos processos fisiológicos. De acordo com Boyer (2017), cada espécie vegetal possui uma capacidade máxima de tolerar potencias hídricos foliares adversos durante o ciclo de vida, sendo que para o feijão-comum o valor de -1,5 MPa.

Ressalta-se que a reposta de cada genótipo permite selecionar aqueles com melhor índice de tolerância ao estresse hídrico, fazendo com que seja possível a manutenção da taxa fotossintética (RIBEIRO et al., 2004), o que, segundo Nepomuceno et al. (2001), é fundamental para sustentar o rendimento produtivo das culturas, por meio da associação do potencial genético e outros mecanismos capazes de elevar a tolerância à seca.

5.6 CONCLUSÕES

O tratamento de sementes com ASM reduz o período necessário para o florescimento do feijão-comum, assim como o número de vagens emitidas devido ao redirecionamento de fotoassimilados para o metabolismo secundário.

As plantas cultivadas com restrição hídrica retardam o número de dias para emergir, além de reduzir a concentração de clorofila b e o número de vagens.

O florescimento é influenciado pela variabilidade genética, sendo que os genótipos IPR Curió e Uirapuru reduzem a fase vegetativa quando submetidos ao estresse hídrico.

A aplicação de ASM no tratamento de sementes reduz a área foliar total de plantas durante o florescimento e, quando associado à restrição hídrica, atinge seu menor nível.

A condutância estomática pode ser considerada uma variável capaz de mensurar o estresse fisiológico do feijoeiro. A intensidade da condutância estomática varia conforme o genótipo, o nível de estresse e a aplicação de ASM.

5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v.51, n.2, p.163-190, 2013.
- BARBOSA, A. P.; MESCHEDÉ, D. K.; ALVES, G. A. C.; FREIRIA, G. H.; FURLAN, F. F.; ALVES, L. A. R.; JUNCO, M. C. Crescimento e teor de pigmentos de *Paspalum notatum* em resposta a aplicação de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 2, p. 152-162, 2017.
- BOYER, J. S. **Plant water relations: a whirlwind of change. In: Progress in Botany** Springer, Cham, v.79, p.1-31, 2017.
- COSTA, R. R. D. **Atenuação de estresse hídrico em plantas de feijão-caupi tratadas com ácido salicílico**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual da Paraíba, 89f, 2016.

ESPOSTI, M. S. O. G. **Estresse hídrico em duas espécies arbóreas de Diferentes estágios sucessionais**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes – RJ, 46p. 2013.

EUZEBIO, Milena Pierotti et al. Abordagem Bayesiana para a avaliação da adaptabilidade e estabilidade de cultivares de feijão do grupo comercial carioca. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, 2018.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de Feijão**. ESALQ/USP. 2007, 386p.

FELIPE, R. T. A.; OLIVEIRA, J.A. de; LEÃO, G. A. Potencial de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. **Revista Árvore**, v. 33, p. 245-254, 2009.

FERNANDES, E. T. **Fotossíntese e crescimento inicial de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos**. Dissertação de Mestrado apresentada a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória Da Conquista, BA, 114p. 2012.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Universidade Federal de Viçosa: Empresa Júnior de Agronomia, 2006, 412p.

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

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; DEL PELOSO, M. J.; OLIVEIRA, J. P. Genótipos de feijoeiro comum sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 15, n. 7, 2011.

HAMMERSCHIMIDT, R.; MÉTRAUX, J. P.; VAN LOON, L.C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n.1, p.1-6, 2001.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LIU, C.; GUO, J.; CUI, Y.; LÜ, T.; ZHANG, X.; SHI, G. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v. 344, n. 1, p. 131-141, 2011.

MELO, A. S.; SILVA, A. R. F.; DUTRA, A. F.; DUTRA, W. F.; SILVA SÁ, F. V.; MOURA ROCHA, M. Crescimento e pigmentos cloroplásticos de genótipos de feijão vigna sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v.12, n.3, p.2579, 2018.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

- NASCIMENTO, S. P. N.; BASTOS, E. A.; ARAUJO, E. C. E.; FILHO, F. R. F.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.
- NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 23, p. 12-18, 2001.
- OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.
- RIBEIRO, R. V.; SANTOS, M. G.; SOUZA, G. M.; MACHADO, E. C.; OLIVEIRA R. F.; ANGELOCCI, L. R.; PIMENTEL, C. Environmental effects on photosynthetic capacity of bean genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 615- 623, 2004
- SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, n. 42, v.4, p. 558-566, 2013.
- SOUSA, R. F.; SOUSA, J. A. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 01-08, 2017.
- SOUZA, A. P. MOTA, L. L.; ZAMADEI, T.; MARTIN, C. C. Classificação Climática e Balanço Hídrico Climatológico no Estado de Mato Grosso. **Nativa**, v.1, n.1, p. 34-43, 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGUER, E.; MOLLER, M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
- VALE, N. M. do; BARILI, L. D.; ROZZETO, D. S. COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; KOOP, M. M. Avaliação para tolerância ao estresse hídrico em feijão. **Biotemas**, v. 25, n. 3, p. 135-144, 2012.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este trabalho teve como proposta geral abordar a relação entre o desenvolvimento vegetal e o processo de absorção de água, desde o início da germinação até a formação plena de plântulas de feijão-comum. Foi possível verificar que a embebição está intimamente ligada ao ambiente em que as sementes estão acondicionadas, uma vez que em situações com restrição hídrica este processo ocorre de maneira mais lenta, porém atinge níveis semelhantes de acúmulo de água quando comparado ao sem restrição.

Ressalta-se que, independente ao seu tempo de duração, a embebição apresenta um padrão trifásico, sendo que na primeira fase ocorre o maior acúmulo de água. O ponto de maior discrepância entre a absorção nos diferentes ambientes pode ser observado durante a fase dois, pois a restrição fez com que houvesse um prolongamento desta etapa, em todos os genótipos avaliados.

Associado a estes fatores, concluiu-se que a capacidade das sementes em absorverem água esta correlacionada com sua composição química. Nas primeiras horas de embebição, a hemicelulose, o cálcio, o manganês e o cobre influenciaram de forma positiva o acúmulo hídrico, já a celulose contribuiu negativamente para este fenômeno. O conhecimento deste comportamento auxilia na compreensão da dinâmica do processo germinativo, auxiliando na tomada de decisão momento da semeadura em diferentes ambientes.

Assim sendo, foi possível estabelecer que a aplicação de produtos capazes de auxiliar as sementes durante a germinação é viável. O recobrimento da superfície com acibenzolar-s-methyl fez com que houvesse a manutenção do potencial fisiológico inicial das sementes, em ambientes com e sem restrição hídrica, principalmente devido a maior síntese de proteínas de defesa e da enzima catalase, capaz de combater o estresse oxidativo.

Para o feijão-comum determinou-se que o efeito do produto perdura em níveis de estresse hídricos medianos, uma vez que a partir de $-0,8$ MPa tal padrão não é consistente. Com isto, há a possibilidade de determinar em quais condições se pode realizar a semeadura, a fim de reduzir possíveis perdas.

Quando avaliado o desenvolvimento vegetal, foi observado que a aplicação de ASM alterou a atividade metabólica das plantas, pois reduziu a área foliar total e número de vagens. Este fato permite inferir que houve um redirecionamento de reservas para aumentar a atividade metabólica secundária e, conseqüentemente, os mecanismos de defesa.

Vale ressaltar que a condutância estomática mostrou-se como um bom parâmetro para mensurar o estresse hídrico no feijoeiro. Entretanto, foi constatado que esta característica apresenta alta sensibilidade e é influenciada por diversas fontes de variação, incluindo a variabilidade genética dentro de uma mesma espécie.

O assunto abordado possui uma grande abrangência, o que possibilita a realização de novos trabalhos nesta linha de pesquisa, com o intuito de elucidar as questões que permanecem pendentes e incrementar as informações relatadas, resultando em uma maior aplicabilidade dos resultados obtidos.