

**RESPOSTA DE DUAS POPULAÇÕES DE FEIJÕES (*Phaseolus vulgaris*
L.) TRATADAS COM ÁCIDO SALICÍLICO E SUBMETIDAS A ESTRESSE
HÍDRICO**

MARIA AMÉLIA BARBOSA DURÃES

**RESPOSTA DE DUAS POPULAÇÕES DE FEIJÕES (*Phaseolus vulgaris*
L.) TRATADAS COM ÁCIDO SALICÍLICO E SUBMETIDAS A ESTRESSE
HÍDRICO**

MARIA AMÉLIA BARBOSA DURÃES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Agronomia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador:
Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto

633.372
D947r

Durães, Maria Amélia Barbosa
Resposta de duas populações de feijões
(*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas com ácido
salicílico e submetidas a estresse hídrico / Maria
Amélia Barbosa Durães. – Presidente Prudente :
[s. n.], 2006.
32 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) –
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE:
Presidente Prudente – SP, 2006.
Bibliografia

1. Feijão. 2. Ácido salicílico. 3. Estresse
hídrico. 4. Feijão, fotossíntese. I. Título.

MARIA AMÉLIA BARBOSA DURÃES

**Resposta de duas populações de feijões (*Phaseolus Vulgaris* L.)
tratadas com ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Presidente Prudente, 25 de agosto de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

Prof. Dr. Antônio Natal Gonçalves
ESALQ- USP

Prof. Dr. José Salvador Simoneti Foloni
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Osvaldo e Amélia, pela compreensão e amor dedicados, verdadeiros exemplos de força, humildade e honestidade.

Aos meus avôs, Waldemar e Benedita, que sempre me apoiaram nos momentos difíceis.

E aos meus amigos, pela energia positiva.

AGRADECIMENTOS

Ao querido, professor, Dr. Nelson Barbosa Machado Neto, pela orientação, pela confiança e paciência dedicadas a mim, pelo profissionalismo, e pela maneira com que me mostrou a coragem de ir adiante a coisas que normalmente parecem difíceis.

Agradecimentos especiais à professora Dra. Ceci Custódio Castilho, pela presença amiga, e disposição em me ajudar em todo momento solicitado.

As funcionárias da UNOESTE, Márcia e Luciana, pelo tempo dedicado ao meu trabalho, e pela presença sempre positiva.

A todos os professores de pós-graduação da UNOESTE, que contribuíram para que este mestrado se tornasse realidade.

A UNOESTE, pela oportunidade de participar desse programa de mestrado, e pela utilização de suas instalações.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
Artigo	
Resposta de duas populações de feijões (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) tratadas com ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS	14
DISCUSSÃO.....	15
CONCLUSÕES.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
ANEXOS.....	29

RESUMO

Resposta de duas populações de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas com ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é responsivo a estresses térmicos e a deficiência hídrica. Esta variabilidade pode ser oriunda de processos de seleção natural ou de melhoramento de plantas. O objetivo desse experimento foi avaliar alguns parâmetros em plantas de feijão submetidas a estresse hídrico, sob aplicação de diferentes doses de ácido salicílico. Duas populações foram cultivadas em vasos de 20L até o desenvolvimento da terceira folha e tratadas com ácido salicílico (zero, 0,025, 0,05 e 0,1mM) três vezes espaçadas de três dias, ficando sem irrigação por nove dias até atingirem ponto de murcha. As eficiências quânticas efetiva e potencial, e a taxa de transporte de elétrons foram medidas durante e após o estresse. O teor de prolina, atividade de SOD, conteúdo de proteínas totais e massa seca foram medidos 24h após reidratação. O ácido salicílico induziu alterações, na população Guraumbé. O cultivar 'Aporé' demonstrou-se não responsivo ao ácido salicílico para os caracteres fotossintéticos.

Palavras-chave: Feijão. Ácido salicílico. Estresse hídrico. Feijão, fotossíntese

ABSTRACT

Two population of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) behaviour treated with salicylic acid and exposed to water deficit

Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a tropical plant from highlands is responsive to environmental stresses, as thermal stresses and water deficiency. This variability can be originated from natural selection or plant breeding processes. The objective of this experiment was to evaluate some parameters in common bean plants submitted to the water stress under application of different salicylic acid doses. Two populations grew in 20L pots until the third leaf was developed. They were treated with salicylic acid (zero, 0.025, 0.05 and 0.1mM) three times spaced three days. Plants were kept without water during nine days until they reach water deficit. Quantic efficiency, effective and potential and electron transport rate were measured during and after rehydration. Proline content, SOD activity, soluble protein content and dry matter was measured after 24h of water restoration. The salicylic acid induced alterations, in the population Guarumbé. 'Aporé' showed to be not responsive to salicylic acid for photosynthetic parameters.

Key-words: Salicylic acid. Water déficit. Navy beans. Photosynthesis

Resposta de duas populações de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas com ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico.

Maria Amélia Barbosa Durães¹, Nelson Barbosa Machado Neto²

¹ Aluna do curso de mestrado em Produção Vegetal do Curso de Agronomia da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Rodovia Raposo Tavares, km 572, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil.

² Professor do mestrado em Produção Vegetal do Curso de Agronomia da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Rodovia Raposo Tavares, km 572, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. *E-mail: nbmneto@unoeste.br

ABSTRACT

Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a tropical plant from highlands is sensitive to environmental stresses, as thermal stresses and water deficiency. This variability can be originated from natural selection or plant breeding processes. The objective of this experiment was to evaluate some parameters in common bean plants submitted to the water stress under application of different salicylic acid doses. Two populations grew in 20L pots until the third leave was developed. They were treated with salicylic acid (zero, 0.025, 0.05 and 0.1mM) three times spaced three days. Plants were kept without water during nine days until they reach water deficit. Quantic efficiency, effective and potential and electron transport rate were measured during and after rehydration. Proline content, SOD activity, soluble protein content and dry matter was measured after 24h of water restoration. The salicylic acid induced alterations, in the population Guarumbé. 'Aporé' showed to be insensitive to salicylic acid for photosynthetic parameters.

Key words: salicylic acid; water deficit; navy beans; photosynthesis

INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é considerado um dos grãos mais importantes para a alimentação humana, sendo cultivado em aproximadamente 12 milhões de hectares no mundo, tendo o Brasil como principal produtor. A cultura do feijão, por ser uma planta tropical de altitude, é sensível aos estresses ambientais severos, como estresses térmicos e deficiência hídrica, sendo esta uma das principais causa de reduções na produtividade de diversas culturas. (Parry et al. 2002, Bajji et al. 2000).

Existe uma grande variabilidade na tolerância à seca entre as espécies (Pimentel e Hérbert 1999) e a susceptibilidade deve ser bem analisada, uma vez que, mais da metade da produção mundial de feijão, está instalada sob regiões de ocorrência de falta de água (Souza et al. 2003). Esta variabilidade pode ser oriunda de processos de seleção natural ou de melhoramento de plantas (seleção artificial) que levariam a diferentes caminhos de tolerância ou resitência (Allard 1988, Araus et al. 2002, Gepts 2002, Salamini et al. 2002, Diamond 2002).

Assim, os genótipos devem ser avaliados como fontes de genes importantes para programas de melhoramento, sejam cultivares comerciais recentes sejam populações selvagens, que tiveram seus genes selecionados de maneiras diferentes (Allard 1988, Araus et al. 2002, Gepts 2002, Diamond 2002). Plantas cultivadas foram selecionadas para produtividade muitas vezes em detrimento dos sistemas de defesa, ao passo que plantas silvestres evoluíram para a resistência ou tolerância a flutuações ambientais em detrimento de uma elevada produção de sementes. A adaptação de plantas a ambientes desfavoráveis é baseada na extrema necessidade de sobrevivência. (Gimalov et al. 1996) e em muitas plantas, mudanças graduais das condições ambientais induzem tolerância para situações extremas.

Apesar dos vegetais não apresentarem defesas, através de movimentos ágeis, sabe-se que podem ocorrer adaptações e profundas alterações no metabolismo celular, entre elas a síntese de proteínas de defesas, expressa por genes específicos, ativados através de mecanismos complexos

(Busam et al. 1997; Pinheiro et al. 1999), exercendo vários papéis na resistência e sobrevivência da planta, de forma direta ou indireta.

O ácido salicílico (AS) é um sinal molecular natural que exerce um importante papel na regulação de um número de processos fisiológicos na planta (Shi et al 2005), sendo que o acúmulo de AS é um importante componente nos sinais de tradução das vias principais para a resistência sistêmica adquirida (SAR). Entretanto, a função exata que o AS exerce é incerta (Hunt et al 1995). AS possíveis funções para o AS podem ser a ligação e inativação de isoformas de catalase (Hunt et al. 1995) e como sinal de defesa nas plantas, foi muito bem definida em estudos com plantas de tabaco (Ganesan e Thomas 2000).

Esse elaborado sistema de defesa e adaptação das plantas pode atuar de três formas: i) Resistência constitutiva, inespecífica ou estática, dependendo do pesquisador que a elas se refere, ocorre mesmo sem a ação de agentes agressores, recebida por herança genética, tornando as plantas imunes a determinados patógenos; ii). Resistência localizada, ativada no ponto onde ocorre à agressão, e iii) Resistência Sistêmica Adquirida (SAR - Systemic Acquired Resistance) que protege a planta contra ataques subsequentes (Goto 1990; Sticher et al. 1997).

Segundo Métraux et al. (1991) SAR envolve o acúmulo de PRPs (Proteínas Relacionadas à Patogênese) como mecanismos induzidos de defesa da planta. Sua indução é salicilato-dependente podendo resultar em alterações na planta que sofreu indução e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos (White 1979, Métraux et al. 1991, Palva et al. 1994, López-López et al. 1995, Andarwulan e Shetty 1999).

O H_2O_2 possui diversas funções dentro da célula, desde a produção de radicais livres até lignificação e produção de compostos fenólicos, bem como atuando como gatilho para as respostas SAR (Hammerschmidt e Kuc 1982, Siegel 1993, Hammerschmidt e Kuc 1995, Benhamou e Nicole 1999, Jung et al. 2000, McCue et al. 2000) onde o ácido salicílico pode ser responsável por disparar a resposta SAR inibindo peroxidases específicas.

Um número crescente de estudos mostra que o fenômeno de tolerância cruzada nas plantas, isto é., exposição de tecidos a um estresse moderado induz resistência a outro, onde por exemplo o estresse hídrico conferiu resistência a frio intenso em culturas de inverno e a geadas em arroz (Song et al. 2004).

A prolina é um aminoácido que parece ser o soluto mais largamente distribuído em organismos, de bactérias a plantas, especialmente em seres expostos a estresses ambientais (Trotel et al. 1996, Hoai et al. 2003, Yokota 2003, Rizhsky et al. 2004), podendo ser usado como regulador osmótico, protetor enzimático, esqueleto carbônico e reserva de aminas para síntese *de novo* e reinício de crescimento quando o estresse acaba (Sudhakar et al. 1993, Al-Karaki et al. 1996, Hoai et al. 2003). Prolina parece ainda estar relacionada a manutenção da estabilidade protéica durante a maturação e alongação (Andrade et al. 1995).

O acúmulo de prolina tem sido sugerido como resultado na degradação ou síntese da prolina (Sudhakar et al. 1993) inibição da síntese de proteína e no caso de feijões parece estar relacionado aos primeiros mecanismos (Andrade et al. 1995). Síntese de prolina pode ser relacionada com a fotoindução e/ou fotoinativação das enzimas associadas com o catabolismo de prolina. Stewart et al. (1966), Bates et al. (1973) e Stewart e Larher (1980) mostraram o papel essencial da prolina como soluto durante condições de estresse. Todavia, o aumento no conteúdo de prolina indicaria a resistência ou tolerância a falta de água servindo como parâmetro para seleção de materiais com alta resistência. Por outro lado, Maggio et al. (2002) demonstraram que materiais acumuladores de prolina eram susceptíveis a este tipo de estresse.

O objetivo desse experimento foi avaliar a variação de alguns parâmetros em plantas de feijão comum submetidas à deficiência hídrica, sob aplicação de diferentes doses de ácido salicílico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista, em Presidente Prudente- SP. Foram utilizadas duas variedades de feijoeiro (*Phaseolus*

vulgaris L.), o cultivar 'Aporé' (EMBRAPA) e um material silvestre, Guarumbé, coletado no Parque Nacional do Iguaçu. As sementes foram semeadas em vasos com capacidade para 20L de substrato e após a germinação foi deixada uma planta por vaso até o desenvolvimento do terceiro trifólio, sendo fertirrigadas com 300 mL por vaso de solução nutritiva de Hoagland. No surgimento do terceiro trifólio, as plantas foram irrigadas com 250mL da solução de ácido salicílico em quatro concentrações distintas: zero; 0,025; 0,05 e 0,1 (mM) em intervalos de três dias, durante nove dias. Após este período, as plantas permaneceram por igual período sem irrigação para entrar em estresse hídrico. Um lote de plantas de cada variedade foi mantido sob condições normais e sem tratamento ácido para ser utilizado como controle, formando um desenho fatorial de duas variedades com quatro tratamentos mais um controle (2x4+1).

A Eficiência Quântica Potencial do PSII, Eficiência Quântica Relativa do PSII, Taxa de Transporte de Elétrons foram medidas com o auxílio de fluorômetro de luz modulada (modelo FMS-2, Hansatech, UK) antes de depois da rehidratação dos materiais, ao final as plantas foram colhidas e o peso seco obtido por secagem em estufa a 65°C por 48h.

Após as leituras do fluorômetro, o terceiro trifólio de uma planta de cada tratamento foi retirado e dividido. Parte do trifólio foi triturado em tampão fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4:\text{K}_2\text{HPO}_4$) 0,1M (pH 7,8) à 4°C, contendo 0,4g L⁻¹ de polivinilpolipirrolidona (PVPP), 2mM dithiothreitol (DTT) e 0,1mM do sal sódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), centrifugando-se a 12000g por 20 minutos. Este foi dividido em alíquotas e quantificou-se proteína de acordo com Bradford (1976). O sobrenadante restante foi dividido em quatro frações que foram ensaiadas imediatamente, quando possível ou estocadas a -80°C. A atividade de superóxido dismutase (SOD, EC.1.15.11) foi avaliada em 50µL de extrato aos quais foi adicionado tampão fosfato 0,1M (pH 7,8) contendo 1,3µM riboflavina, 13mM metionina e 63µM Nitro blue tetrazolium (NBT). Os tubos foram incubados a 25°C por 15 minutos sob iluminação de lâmpadas fluorescentes, medindo-se a absorbância a 560nm. Tubos contendo o mesmo meio e não submetidos à luz foram utilizados como branco. Uma

unidade de SOD foi definida como a atividade de enzima capaz de inibir a fotorredução do NBT a formazan azul em 50% e foi expressa em unidades de SOD (mg proteína)⁻¹.

O teor de prolina foi analisado, em parte do terceiro trifólio, segundo metodologia de Bates et al.(1973) e modificada por Machado Neto et al. (2004).

Foi realizada a análise de variância dos dados pelo teste F e posteriormente a análise de regressão polinomial do efeito das doses de ácido salicílico. A comparação dos dados com o controle foi efetuada pela análise de Dunnet bilateral.

RESULTADOS

As plantas de feijoeiro da variedade Guarumbé e do cultivar 'Aporé' apresentaram, em geral, comportamento diferenciado, com base nas variáveis avaliadas.

Analisando-se a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Figura 1-A), durante o estresse hídrico, houve resposta da variedade Guarumbé de maneira crescente com a dose do ácido aplicado. Após o estresse, ambas variedades apresentaram respostas às doses, com um ponto de máxima entre 0,025 e 0,05mM (Figura 1-B).

Nem durante, nem após o estresse, houve resposta estatisticamente significativa das variedades às doses de ácido salicílico aplicadas quanto à eficiência quântica efetiva do PSII (Figuras 1-C e 1-D). Porém, houve uma elevação desta eficiência quando as plantas estavam sobre estresse.

Nem durante, nem após o estresse, houve resposta estatisticamente significativa de 'Aporé' às doses de ácido salicílico aplicadas quanto à taxa de transporte de elétrons (Figuras 2-A e 2-B). Todavia, Guarumbé apresentou respostas crescentes desta taxa após o estresse.

A variedade Guarumbé apresentou respostas significativas às doses de ácido salicílico, tanto para a síntese/acúmulo de prolina (Figura 3-A), como para atividade de superóxido dismutase (Figura 3-B) tendo um ponto de mínimo próximo à dose de 0,05mM. Para proteínas, as respostas de Guarumbé (Figura 3-C) foram ao contrário das anteriores, isto é, houve um aumento de proteínas

solúveis até a dose de 0,05mM, decrescendo depois deste ponto. 'Aporé' não apresentou resposta para atividade de SOD, mas apresentou resposta significativa para acúmulo de prolina.

Em relação ao peso seco, a variedade Guarumbé (Figura 4-A) apresentou uma resposta crescente às doses de ácido salicílico durante o estresse para o crescimento de raízes, não apresentando a mesma resposta para a parte aérea (Figura 4 - B). O cultivar 'Aporé' não apresentou respostas significativas nem para massa seca de raízes nem para massa seca de parte aérea (Figuras 4 - A,B).

Quando comparado com o controle, o cultivar 'Aporé' não apresentou variações para a eficiência quântica potencial e efetiva, taxa de transporte de elétrons, atividade de SOD e proteínas solúveis totais. Houve resposta significativa para massa seca de parte aérea e de raiz, bem como para a relação entre raiz e parte aérea. O acúmulo de prolina se deu na dose zero e na dose 0,025mM, decrescendo para as doses superiores (Tabela - 1).

A variedade Guarumbé, quando comparada com o controle, não apresentou respostas significativas pelo teste de Dunnet bilateral a 5% para taxa de transporte de elétrons, massa seca de parte aérea e para as características de eficiência quântica efetiva e potencial, 24h após o término do estresse (Tabela 1). A eficiência quântica efetiva do PSII durante o estresse foi menor em qualquer dose do tratamento e a eficiência quântica potencial do PSII e a relação entre massa seca de raiz e parte aérea foram inferiores nas doses zero e 0,025mM durante o período de estresse. Houve uma redução da massa seca de raízes em qualquer uma das doses aplicadas de ácido salicílico. A atividade de SOD e a quantidade de prolina apresentaram respostas para a dose zero, com incremento na atividade enzimática e no teor de prolina, e em 0,05mM com diminuição nos dois parâmetros. Para a dose zero houve redução na quantidade de proteínas solúveis neste material.

DISCUSSÃO

A fluorescência da clorofila tem sido considerada como uma ferramenta para a determinação da fotoinibição da fotossíntese e como um indicador de estresse oxidativo (Shim et al 2003). Assim,

as variações observadas podem indicar uma maior sensibilidade da variedade silvestre Guarumbé em relação ao cultivar 'Aporé' quando submetida ao estresse. Os materiais obtidos pelo melhoramento genético e recomendados para o cultivo, como o 'Aporé', passam por uma análise de estabilidade fenotípica e assim sendo, mesmo com oscilações ambientais pouca variação é observada nesses genótipos. De acordo com Gepts (2002) e Diamond (2002) estas adaptações foram selecionadas adicionalmente aos tratos agronômicos durante a domesticação. Assim, selecionando-se para produção, os materiais evoluíram de maneira diversa do natural e a seleção fenotípica utilizada fixou caracteres que não estavam sendo escolhidos diretamente.

Algumas pesquisas mostraram uma correlação positiva entre o acúmulo de prolina e adaptação para os estresses salino e hídrico. Entretanto, algumas questões permanecem, se o acúmulo de prolina contribui para a adaptação celular da planta ao estresse salino ou se a função é restrita ao ajustamento osmótico celular (Yokota 2003). A variedade Guarumbé já foi identificada como acumuladora de prolina durante a germinação em situação de estresse, o mesmo não acontecendo com o cultivar 'Aporé' (Machado Neto et al. 2004) e como resistente ao estresse hídrico (Souza et al. 2003) apesar de não serem diferentes nas temperaturas cardeais de germinação (Machado Neto et al. 2006).

Sob condições de estresse, as plantas tendem a aumentar a atividade das peroxidases e às vezes, é a primeira enzima a ter atividade alterada, independentemente do substrato utilizado ou do estresse aplicado. A peroxidase pode ser tomada como um marcador bioquímico de estresse resultante tanto de fatores bióticos como de abióticos e ainda parece ser a molécula chave de adaptação das plantas, ou de algum de seus órgãos separadamente, às mudanças do meio ambiente (Rossi et al. 2001).

Todavia, neste trabalho, a aplicação de AS ocasionou diminuição na atividade de superóxido dismutase ou no acúmulo de prolina, mas aumentou o teor de proteínas solúveis na variedade Guarumbé. Comparadas com as plantas controle, a atividade de SOD, bem como o teor de prolina, aumentou em plantas não tratadas com AS e decaíram com 0,05mM de ácido salicílico.

Segundo Métraux et al. (1991) e Andarwulan e Shetty (1999) o ácido salicílico atua como elicitador dos sistemas relacionados a SAR. Assim as respostas observadas em 'Guarumbé' estariam de acordo com estas observações, onde materiais não tratados com AS ativaram as formas normais de defesa, aumentando a concentração de prolina e a atividade de SOD, o que levaria a um aumento da osmolaridade do citoplasma e a uma maior produção de H₂O₂ o que está relacionado com diversas formas de resistência como lignificação, produção de radicais livre e de compostos fenólicos os quais estariam ligadas as resistências a patógenos e herbívoros. O aumento de prolina ainda poderia estar diretamente relacionado com a diminuição da concentração de proteínas solúveis (Stewart et al. 1966, Bates et al. 1973, Stewart e Larher 1980, Sudhakar et al. 1993, Andrade et al. 1995 e Machado Neto et al. 2004).

'Aporé' apresentou aumento de prolina nas doses zero e 0,025mM de AS, reduzindo o teor nas doses seguintes. Isto pode significar que apesar de ser pouco responsivo ao AS o cultivar 'Aporé' respondeu com um estímulo positivo a este numa tentativa de minimizar os efeitos do estresse, sendo a prolina responsável por este ajuste, e que doses mais elevadas deste ácido poderiam estar ativando outros sistemas de defesa ou inibindo o acúmulo de prolina.

Tanto para 'Guarumbé', quanto para 'Aporé' houve decréscimo do acúmulo de matéria seca em raízes, e apenas o segundo material apresentou redução também na parte aérea. Materiais silvestres tendem a suportar maiores variações ambientais, ao passo que materiais, oriundos de programas de melhoramento, tendem a ser mais adaptados às condições específicas de cultivo, condizendo com o afirmado por Allard (1988), Schaal e Olsen (2000), Diamond (2002) e Gepts (2002).

CONCLUSÕES

O uso de AS não foi eficiente para minimizar os efeitos de estresse hídrico, todavia, em material silvestre houve respostas a este tratamento e em material cultivado a resposta foi traduzida

como redução no acúmulo de matéria seca e alterações nas concentrações de prolina em todas as doses do tratamento.

RESUMO

Existe variabilidade em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) quanto à sensibilidade a estresses térmicos e a deficiência hídrica. Esta variabilidade pode ser oriunda de processos de seleção natural ou de melhoramento. O objetivo desse experimento foi avaliar características fisiológicas e bioquímicas em plantas de feijão submetidas a estresse hídrico, sob aplicação de diferentes doses de ácido salicílico. Duas variedades foram cultivadas em vasos de 20L até o desenvolvimento da terceira folha e tratadas com ácido salicílico nas dosagens de zero, 0,025, 0,05 e 0,1(mM). O tratamento foi feito três vezes, espaçadas de três dias, ficando sem irrigação por nove dias até atingirem ponto de murcha. As eficiências quânticas efetiva e potencial, e a taxa de transporte de elétrons foram medidas durante e após o estresse. O teor de prolina, atividade de SOD, conteúdo de proteínas totais e massa seca foram medidos 24h após a rehidratação. O ácido salicílico induziu alterações, na variedade Guarumbé. O cultivar 'Aporé' demonstrou-se insensível ao ácido salicílico para os caracteres fotossintéticos.

Palavras chave: Ácido salicílico; estresse hídrico; feijão, fotossíntese, bioestimulantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Karaki GN, Clark RB e Sullivan CY (1996) Phosphorus nutrition and water stress effects on proline accumulation in shorghum and bean. **Journal of Plant Physiology** **148**:745-751.

Allard RW (1988) Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. **Journal of Heredity** **79**:225-238.

Andarwulan N e Shetty K (1999) Improvement of pea (*Pisum sativum*) seed vigour response by fish protein hydrolysates in combination with acetyl salicylic acid. **Process Biochemistry** **35**: 159-165.

- Andrade JL., Larqueé-Saavedra A e Trejo CL (1995) Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. **PHYTON**, **57**:149-157.
- Araus JL, Slafer GA, Reynolds MP e Royo C (2002) Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? **Annals of Botany** **89**:925-940.
- Bajji M, Lutts S, Kinet J-M (2001) Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. **Plant Science** **160**: 669–681.
- Bates LS; Waldren RP e Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil** **39**: 205-207.
- Benhamou N e Nicole M (1997) Cell biology of plant immunization against microbial infection: The potential of induced resistance in controlling plant diseases. **Plant Physiology Biochemical** **37**: 703-719.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry** **72**: 248-254.
- Busam G, Kassemeyer H-H e Mattern U (1997). Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators of fungal challenge. **Plant Physiology** **115**: 1029-1038.
- Cornic G, Ghashghaie B e Briantais J-M (1992) Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. **Photosynthetica** **27**: 295-309.
- Diamond J (2002) Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. **Nature** **418**:700-706.
- Ganesan V e Thomas G (2001) Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H₂ O₂ accumulation and oxidative stress. **Plant Science** **160**:1095–1106.
- Gepts P (2002) A comparison between crop domestication, classical plant breeding and genetic engineering. **Crop Science** **42**: 1780-1790.

Gimalov FP, Chemeris AV e Vakhitov VA (1996) Synthesis of cold shock proteins in wheat tribe seedlings of the family Poaceae. **Russian Journal of Plant Physiology** **43**:228-231.

Goto M **Fundamentals of Bacterial Plant Pathogens**. San Diego: Academic Press, 1990. 342p.

Hoai NTT, Shim IS, Kobayashi K e Kenji U (2003) Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Plant Growth Regulation** **41**: 159-164.

Hunt M, Neuenschwander UH, Delaney TP, Weyman KB, Friedrich LB, Lawton KA, Steiner HY, e Ryals JA (1996) Recent advances in systemic acquired resistance research. **Gene** **179**: 89-95.

Jung S, Kim JS, Cho KY, Tae GS e Kang BG (2000) Antioxidant responses of cucumber to photoinhibition and oxidative stress induced by norflurazon under high and low PPFs. **Plant Science** **153**: 145-154.

Kaiser WSAT (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. **Physiology Plantarum** **71**: 142-149.

López-López MJ, Liébana E, Marcilla P e Beltrá R (1995) Resistance induced in potato tubers by treatment with acetylsalicylic acid to soft rot produced by *Erwinia carotovora subsp. carotovora*. **Journal of Phytopathology** **143**: 719-724.

Machado Neto NB, Custódio CC, Gatti AB, Priolli MR e Cardoso VJM (2004) Proline: use as an indicator of temperature stress in bean seeds. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **4**:127-134.

Machado Neto NB, Prioli MR, Gatti AB e Cardoso VJM (2006) Temperature effects in races of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Scientiarum Agronomia** **28**:155-164.

Maggio A, Miyazaki S e Veronese P (2002) Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? **Plant Journal** **31**: 699-712.

McCue P, Zheng Z, Pinkham J e Shetty K (2000) A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Process Biochemistry**, **35**, 603-613.

- Métraux JP, Ahl Goy P, Staub T, Spelch J, Steinemann A, Ryals J, Ward E (1991) Induced resistance in cucumber in response to 2,6-dichloroisonicotinic acid and pathogens. In: Hennecke H; Verma DPS. (Eds). **Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions**. Dordrecht: Kluwer Academic Pub., 1991. p.432-439.
- Oidaira H, Sano S, Koshiha T e Ushimaru T (2000) Enhancement of antioxidative enzyme activities in chilled rice seedlings. **Journal of Plant Physiology** **156**: 811-813.
- Palva TK, Hurtig M, Daindrenan P e Palva ET (1994) Salicylic acid induced resistance to *Erwinia carotovora subsp. carotovora* in tobacco. **Molecular Plant-Microbe Interaction** **7**: 356-363.
- Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea P e Keys A (2002) Rubisco Activity: Effects of drought stress. **Annal of Botany** **89**: 833-839.
- Pimentel C e Hébert G (1999) Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **11**: 7-11.
- Pinheiro MM, Sandroni M, Lummerzheim M e Oliveira DE (1999) A defesa das plantas contra as doenças. **Revista Ciência Hoje** **147**: 25-31.
- Rizhsky L, Liang H e Shuman J (2004) When defense pathways collide. The response of arabidopsis to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology** **134**: 1683-1696
- Rossi C, Lima GP (2001) Cádmio e atividade de peroxidase durante a germinação de sementes de feijoeiro. **Scientia Agrícola** **58**: 197-199.
- Salamin F, Özkan H, Brandolin A, Schäfer-Pregl R e Martin W (2002) Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. **Nature reviews: Genetics** **3**: 429-441.
- Schaal BA e Olsen, KM (2000) Gene genealogies and population Variation in plants. **PNAS** **97**:7024-7029.
- Shi Q, Bao Z, Zhu Z, Ying Q e Qian Q (2005) Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Russian Journal of Plant Physiology** **52**: 793–800.

- Shim I-S, Momose Y, Yamamoto A, Kim D-W e Usui K (2003) Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. **Plant Growth Regulation** **39**: 285–292.
- Siegel BZ (1993) Plant peroxidases - an organismic perspective. **Plant Growth Regulation** **12**: 303-312.
- Singh SP, Terá H, Munõz G, Osorno JM e Takegami JCAT (2003) Low soil fertility tolerance in landraces and improved common bean genotypes. **Crop Science** **43**: 110–119.
- Song SQ, Lei YB e Tian XR (2005) Proline metabolism and cross-tolerance to salinity and heat stress in germinating wheat seeds. **Russian Journal of Plant Physiology** **52**: 793–800.
- Souza GM, Aidar ST, Giaveno CD e Oliveira RF (2003) Drought stability in different common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **3**: 203-208.
- Stewart CR e Larher F (1980) Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: Stumpf, P. K. e Conn, E. E (ed). **The Plant Biochemistry**, v. 5. Academic Press, New York. p. 609-635.
- Stewart CR, Morris CJ e Thompsom JF (1966.) Changes in aminoacid content of excised leaves during incubation II. Role of sugar in the accumulation in wilted barley leaves. **Plant Physiology** **41**:1585-1590.
- Sticher L, Mauch Mani B e Mettraux JP (1997) Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology** **35**:235-270.
- Sudhakar C, Reddy PS e Veeranjane glu K (1993) Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidation in green gram (*Phaseolus aureus* Roxb.) seedlings. **Journal of Plant Physiology** **141**:621-623.
- Trotel P, Bouchereau A, Niogret MF e Larher F (1996) The fate of osmo-accumulated proline in leaf discs of rape (*Brassica napus* L.) incubated in a medium of low osmolarity. **Plant Science Limerick** **118**: 31-45.

White RF (1979) Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. **Virology** **99**:420-412.

Yokota S (2003) Relationship between salt tolerance and proline accumulation in Australian acacia species. **The Japanese Forestry Society** **8**: 89–93.

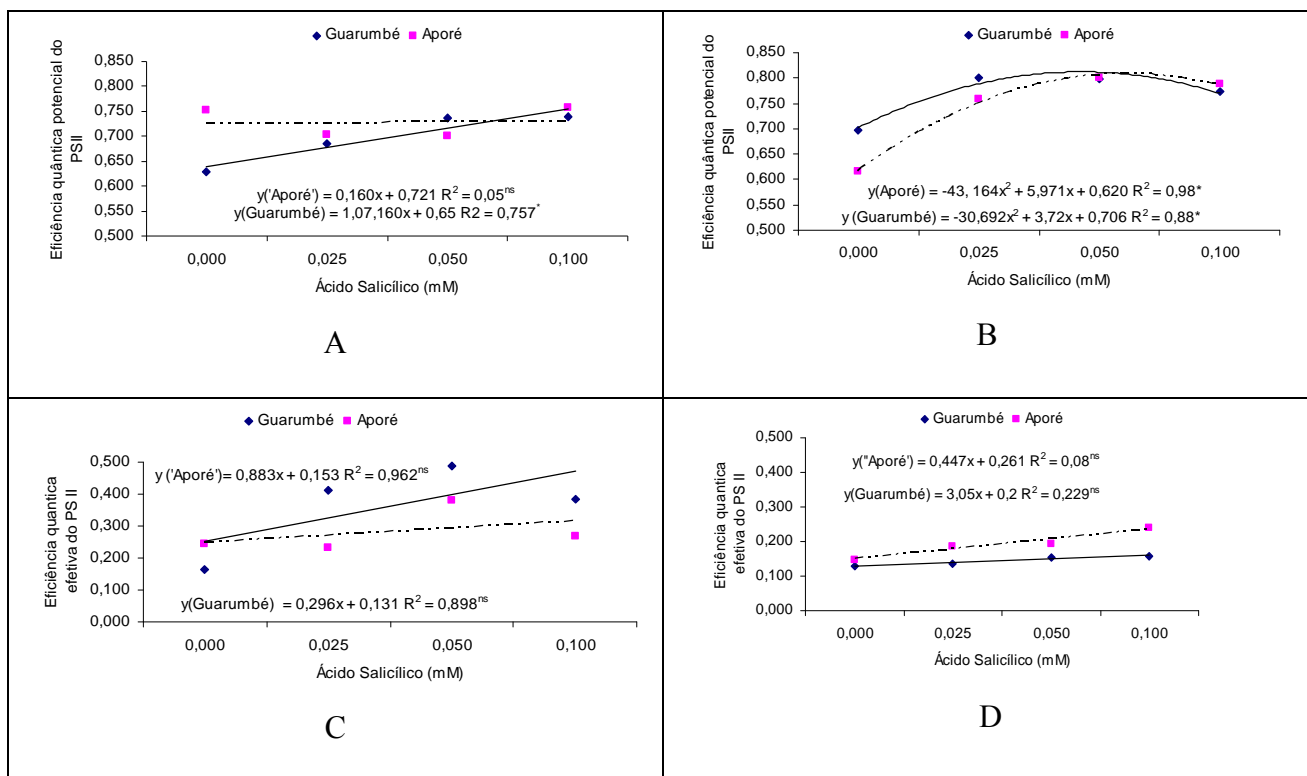


Figura 1 - Eficiência Quântica Potencial (A, B - Fv/Fm) e efetiva (C, D - èPS2) do PSII em plantas de feijoeiro do cultivar ‘Aporé’ e da variedade Guarumbé tratadas com diferentes doses de ácido salicílico, submetidas a estresse hídrico (A, C) e 24h após a restauração da hidratação (B, D). Presidente Prudente, 2006.

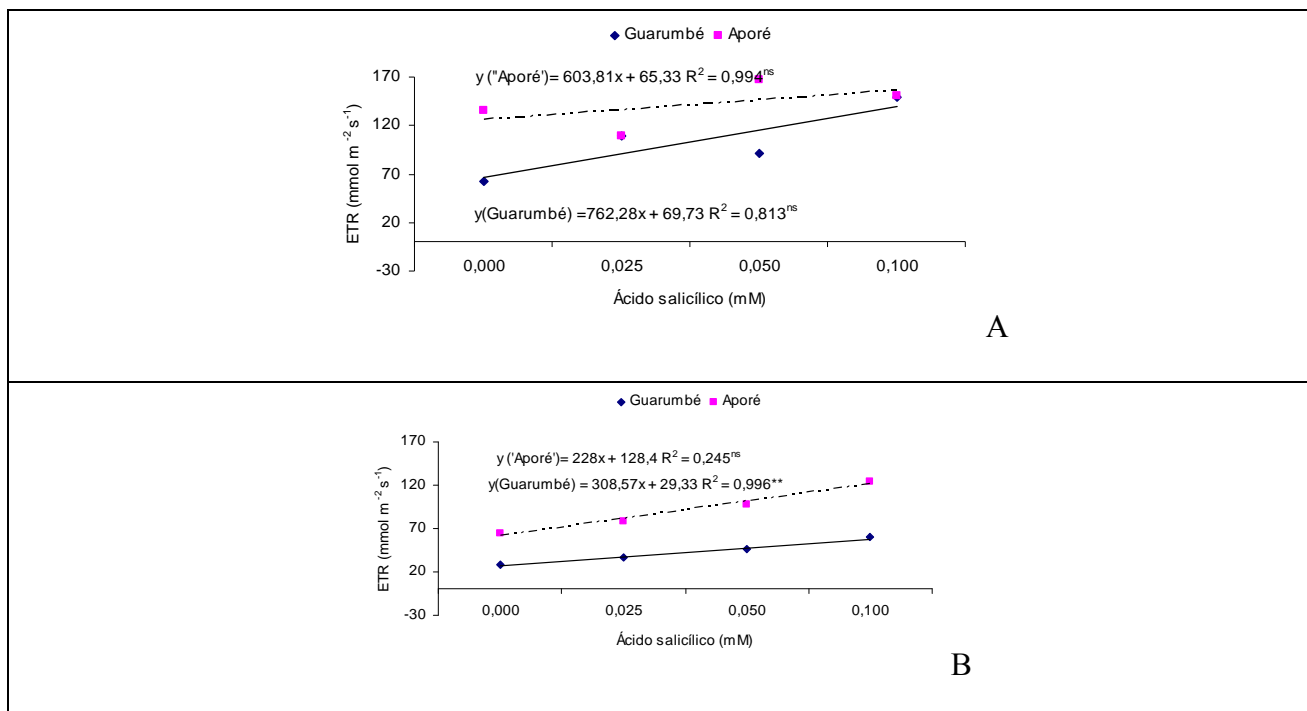


Figura 2 - Taxa de Transporte de Elétron (ETR) em plantas de feijoeiro do cultivar ‘Aporé’ e da variedade Guarumbé tratadas com diferentes doses de ácido salicílico, submetidas a estresse hídrico (A) e 24h (B) após a restauração da hidratação. Presidente Prudente, 2006.

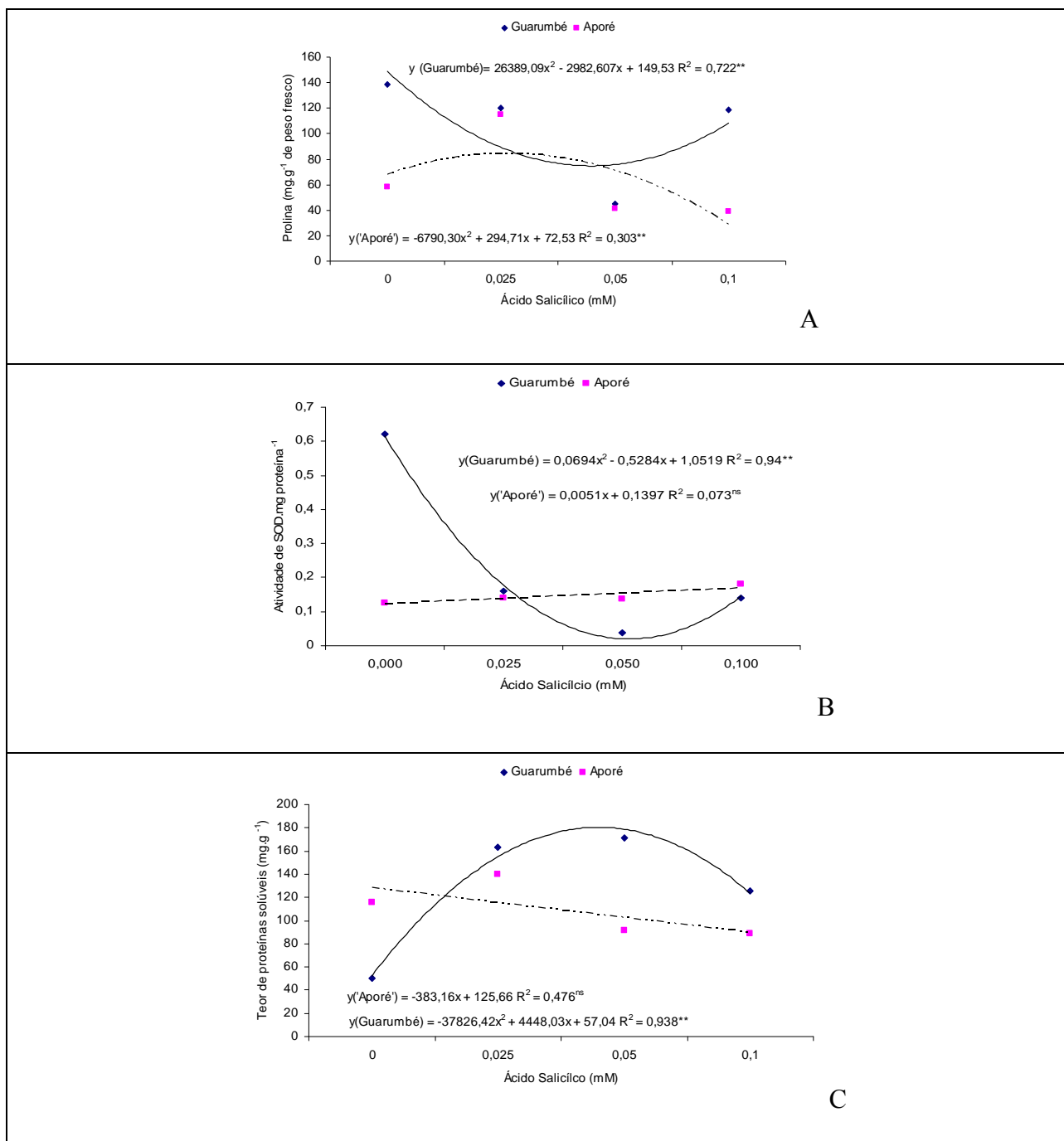


Figura 3 - Teor de prolina (A), atividade de superóxido-dismutase (B) e teor de proteínas solúveis (C) em plantas de feijoeiro do cultivar 'Aporé' e da variedade Guarumbé tratadas com diferentes doses de ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico. Presidente Prudente, 2006.

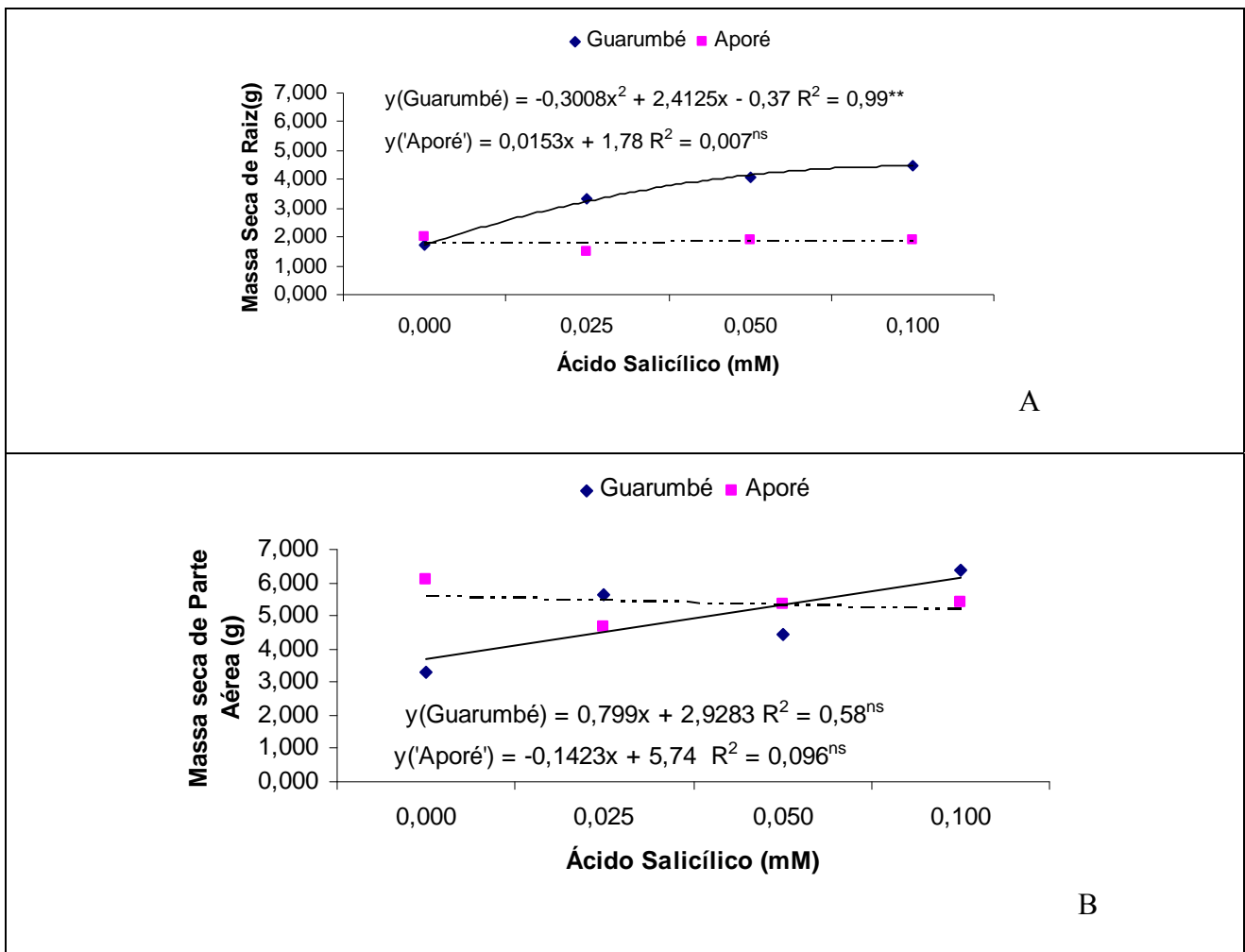


Figura 4 - Dados de Peso Seco de Raiz (A) e de Parte aérea (B), obtidos de plântulas de feijoeiro do cultivar 'Aporé' e da variedade Guarumbé tratadas com diferentes doses de ácido salicílico e submetidas a estresse hídrico. Presidente Prudente, 2006.

Tabela 1 - Significância da comparação entre os tratamentos de ácido salicílico, antes e após o estresse hídrico, e plantas não tratadas e mantidas em condições não estressantes (controle) pelo teste de Dunnet bilateral.

Estresse	Ácido Salicílico (mM)	Eficiência Quântica Efetiva do PSII (èPS2)		Eficiência Quântica Potencial do PSII		Taxa de Transporte de elétrons (ETR)		Massa Seca		Relação entre Raiz e Parte aérea	Atividade de Super-óxido Dismutase	Prolina	Proteínas Solúveis
		antes	depois	antes	depois	antes	depois	Raiz	Copa				
CULTIVAR		$(\Delta F/Fm')$		Fv/Fm		$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$		(g)		(g.g^{-1})			
Guarumbé	Controle	0,276	0,276	0,735	0,605	143	143	9,10	7,25	1,273	0,192	107,41	153,32
	0,000	0,130**	0,163	0,628**	0,698	29	63	1,71**	3,28	0,539**	0,622*	138,65*	50,23**
	0,025	0,136**	0,411	0,686*	0,801	37	109	3,34**	5,65	0,606*	0,160	120,48	162,78
	0,050	0,153**	0,486	0,738	0,799	46	92	4,06**	4,42	1,012	0,038*	44,61**	171,25
	0,100	0,159**	0,386	0,740	0,774	59	149	4,49**	6,35	0,850	0,139	118,79	125,86
Aporé	Controle	0,415	0,351	0,784	0,712	162	106	7,90	12,64	0,624	0,194	47,33	134,08
	0,000	0,147	0,245	0,752	0,615	65	136	2,00**	6,11**	0,330**	0,126	57,89**	115,49
	0,025	0,186	0,232	0,704	0,758	79	110	1,47**	4,657**	0,367*	0,140	114,71**	139,59
	0,050	0,194	0,380	0,700	0,800	98	168	1,90**	5,373**	0,378*	0,137	41,01*	91,56
	0,100	0,240	0,269	0,758	0,788	125	151	1,91**	5,393**	0,349**	0,180	38,99**	88,93
	D _{5%tab}							2,76					
	D _{1%tab}							3,74					

** - Significativo a 1%; * significativo a 5% de probabilidade

ANEXOS

Normas da Revista selecionada

CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY

Instruções aos Autores

Política geral e escopo da revista

A **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** (ISSN 1518-7853) - é a revista trimestral oficial da Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas (<http://www.sbmp.org.br>). O nome internacional abreviado é CROP BREED APPL BIOTECHNOL. A revista está indexada no AGRIS da FAO, CAB International Abstracts, Periódica, Scopus, Chemical Abstracts Service, Agrobase and Acervo Documental da Embrapa e destina-se à publicação de artigos científicos originais que possam contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do melhoramento e da agricultura. Os artigos deverão contemplar as pesquisas básica e aplicada em melhoramento de plantas perenes e anuais, nas áreas de genética, conservação de germoplasma, biotecnologia, genômica, citogenética, estatística experimental, sementes, qualidade de alimentos, estresse biótico e abiótico, e áreas correlatas. O artigo deve ser inédito, sendo vetada a submissão do mesmo a outro periódico. As opiniões e conceitos emitidos são de exclusiva responsabilidade dos autores, não refletindo necessariamente as idéias da Editoria. A Editoria, porém se reserva o direito de sugerir ou solicitar as modificações que se fizerem necessárias. A reprodução completa ou parcial dos artigos é permitida, desde que citada a fonte.

Informação para aquisição

Para associar-se à Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas ou adquirir exemplares avulsos da CBAB envie e-mail para Teina Prado (cbab@ufv.br)

Artigo

A **CBAB** publica artigo exclusivamente em inglês, porém faculta ao autor a possibilidade de submetê-lo em português para, após o aceite, providenciar a sua tradução. O ônus da tradução é de responsabilidade do autor, porém a **CBAB** <http://www.sbmp.org.br/cbab/index.htm>, clicando **Submission**. O sistema de gerenciamento de artigos solicitará o e-mail do autor correspondente e a geração de uma senha. **Os manuscritos deverão ser inseridos sem os nomes dos autores e seus endereços, os quais deverão ser disponibilizados em um formulário à parte.** Com seu e-mail e sua senha pessoal, o autor poderá acompanhar toda a tramitação do seu artigo. A avaliação do artigo será feita por revisores ad hoc especialistas, para auxiliar a Editoria quanto à decisão final de aceite, modificações ou rejeição do mesmo. Ao autor responsável pelo artigo será fornecido, gratuitamente, um exemplar da revista. Separatas serão fornecidas a preço de custo pelo e-mail cbab@ufv.br. O artigo completo deverá conter, preferencialmente, a seguinte sequência: title, abstract, key words, introduction, material and methods, results and discussion, acknowledgements, título, resumo, palavras-chave, references, and tables and black-and-white figures. Ilustrações coloridas serão permitidas, porém com ônus para o autor correspondente. A digitação deverá ser feita em Word for Windows versão 6.0 em diante, em fonte times new roman, tamanho 12, espaçamento duplo, formato A4, com margens de 20 mm e paginação consecutiva no topo à direita. O artigo não deverá

exceder a 18 páginas, incluindo tabelas e figuras digitadas em páginas separadas (uma por página) ao final do texto. O Título deverá ser claro, conciso e refletir a essência do artigo. Escrito com a inicial maiúscula e posto a esquerda, não deve conter mais de 15 palavras digitadas em times new roman 14, bold. O Abstract, tanto quanto o Resumo, não deve exceder a 150 palavras. Um máximo de cinco palavras-chave (key words) será permitido. A introdução deve incluir uma breve revisão de literatura sobre o tema e os objetivos da pesquisa. O Material e Método deve ser redigido de modo que outro pesquisador possa repetir a experiência. Preferencialmente, Resultados e Discussão devem ser apresentados em conjunto, para maior dinâmica de leitura. Os agradecimentos devem ser sucintos, limitados a colaboradores efetivos e agências financiadoras. O Resumo deve ser precedido do título do artigo em português. Cuidado com as Referências. Não citar resumos de eventos e nem artigos não publicados. Citar preferencialmente o artigo de tese, ao invés da própria tese. Esses cuidados darão maior credibilidade ao artigo e a revista. As citações feitas no texto pelo sobrenome do autor e ano (por exemplo, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) deverão ser ordenadas alfabeticamente no item Referências, seguindo os exemplos abaixo:

Artigos em periódicos:

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 1**: 3-10.

Tese:

Resende MDV (1999) **Predição de valores genéticos, componentes de variância, delineamentos de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. PhD Thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 419p.

Livro:

Ramalho MAP, Ferreira DF and Oliveira AC (2000) **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Editora UFLA, Lavras, 326p.

Capítulo de livro:

Sakiyama NS, Pereira AA and Zambolim L (1999) Melhoramento do café arábica. In: Borém A (ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Editora UFV, Viçosa, p. 189-204.

Congresso:

Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In: Stalker HT and Murphy JP (eds.) **Proceedings of the Symposium on Plant Breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.

A **CBAB** publica ainda outras modalidades de trabalhos, todos submetidos ao crivo de revisores ad hoc, do mesmo modo que os artigos.

Revisões

As Revisões, também limitadas a 18 páginas digitadas, serão solicitadas pela Editoria a(os) autor(es) consolidados nas pesquisas que envolvem o tema da revisão. Elas serão elaboradas com o objetivo de lançar luz a um tema instigante que mereça uma análise aprofundada sobre o seu estado-da-arte.

Notas

As Notas são limitadas a 12 páginas digitadas e destinadas a informar pesquisas ou

observações novas, para as quais as ferramentas analíticas não se aplicam. Elas podem focar tema de amplo interesse; relato curto de uma pesquisa original; relato de pesquisa participativa; observações de especial interesse nas áreas de pesquisa, ensino, extensão; lançamento de um novo software relacionado com a área de melhoramento.

Programas de melhoramento

Programas de melhoramento inovadores ou que se destaquem pela eficiência, impacto e/ou continuidade poderão ser retratados na **CBAB**, limitados a 18 páginas digitadas.

Lançamento de cultivares

Os novos cultivares merecerão uma seção especial pela importância que representam para o melhoramento e, por conseguinte, para a agricultura nacional. A seção Lançamento de novos cultivares deverá conter abstract, limitado a 50 palavras, introdução, métodos de melhoramento utilizados, características de desempenho, produção de sementes básicas e um mínimo de referências, tabelas e figuras. Todo o texto ficará limitado a 12 páginas digitadas.

Resenha de livro

Esta nova seção foi criada para anunciar novos livros relacionados ao melhoramento de plantas. A contribuição para essa seção se dará mediante envio, pelo autor, de dois exemplares da obra. O livro será encaminhado para um revisor especializado, escolhido pela Editoria, para elaborar a resenha.

Pontos de vista

Pontos de vista, assim como as revisões, serão elaborados para a **CBAB** a convite da Editoria, para retratar temas de interesse dos melhoristas e da sociedade.

Cartas

Cartas breves, também de interesse geral, serão aceitas para publicação. A Editoria se reserva o direito de editar as cartas por limitações de espaço e clareza de exposição.

Autores de artigos na **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** terão como benefícios:

- Submissão e revisão de artigos eletronicamente
- Rápida publicação: tempo médio de 5 meses
- Artigos disponibilizados em pdf na WEB

Envie artigos acessando <http://www.sbmp.org.br/cbab/index.htm> clicando em **Submission**