UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ANA CAROLINA VIEIRA ZAKIR PEREIRA

Análise da diversidade genética e da expressão de genes candidatos para tolerância ao déficit hídrico no grupo Carioca (*Phaseolus vulgaris L.*), relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular

Piracicaba
2019

ANA CAROLINA VIEIRA ZAKIR PEREIRA

Análise da diversidade genética e da expressão de genes candidatos para tolerância ao déficit hídrico no grupo Carioca (*Phaseolus vulgaris L.*), relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Profª. Drª Tsai Siu Mui

Piracicaba
2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Pereira, Ana Carolina Vieira Zakir

Análise da diversidade genética e da expressão de genes candidatos para tolerância ao déficit hídrico no grupo Carioca (*Phaseolus vulgaris* L.), relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular / Ana Carolina Vieira Zakir Pereira; orientador Tsai Siu Mui. - - Piracicaba, 2019.

92 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Biologia molecular 2. Diversidade genética 3. Expressão gênica 5. Genótipos 6. PCR quantitativo 7. Polimorfismo I. Título.

CDU (577.218 + 631.423.2) : 633.52

Elaborada por:
Marilia Ribeiro Garcia Henyei
CRB-8/3631
Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

Ao meu esposo Luiz Fernando Pereira, pela paciência, carinho, amor e dedicação por ser a pessoa que mais me incentiva, meu companheiro em todos os momentos que tem me apoiado e me ajudado a alcançar os meus objetivos. Dedico também ao meu filho Theo Zakir Manzano Pereira, todo esforço e dedicação não fariam sentido para mim se vocês não estivessem ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela saúde, pelo cuidado, pelo amor com que tem me conduzido dia após dia, pela capacitação para o desenvolvimento deste trabalho e pela oportunidade que tive de conviver com pessoas que ajudaram no meu desenvolvimento profissional.

A Profª. Dra. Siu Mui Tsai pela orientação, pelo suporte, pela oportunidade de desenvolver este trabalho e pelos conselhos que me ajudaram nesse processo de construção do conhecimento.

A Universidade de São Paulo, ao Centro de Energia de Nuclear na Agricultura e ao Programa de Pós-Graduação do CENA/USP por terem oferecido a estrutura necessária à realização deste trabalho e pelas oportunidades concedidas durante o Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, CAPES, pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de Doutorado pelo período de um ano (Código de Financiamento 001).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de Doutorado (Processo nº:155330/2016-0).

Aos técnicos do laboratório de Biologia Celular e Molecular: Fábio Duarte e Wagner Picinini que me apoiaram na realização do trabalho e pelos conhecimentos adquiridos durante esses quatro anos de convivência.

Em especial para os meus colegas do grupo do feijão: Danielle Gregório Gomes Caldas, Gustavo Henrique Recchia, Lucas Roberto Oliveira, Lucas Leite, Mariana Valentim e Juliane Ishida que me acolheram e me ajudaram na construção do conhecimento, pelos momentos agradáveis e descontraídos que passamos.

Aos meus colegas de laboratório: Fabiana de Souza Cannavan, Beatriz Maria Ferrari, Clóvis Borges, Fernanda Nakamura, Andressa Venturini, Caio Augusto Yoshiura, Luis Fernando Merloti, Aline da França, Alexandre Pedrinho, Leandro Fonseca, Leandro Lemos, Mariley, Julia, Patrícia Louvandini, Carolina Sanchez, Sheila Andrade pela convivência diária.

Aos funcionários da Biblioteca, em especial, a Marília por todo apoio e correção da formatação do trabalho.

A todos os funcionários do serviço de Pós-graduação do CENA/USP pelo apoio.

"Porque sem mim nada podeis fazer”.

João 15:5

RESUMO

PEREIRA, A. C. V. Z. **Análise da diversidade genética e da expressão de genes candidatos para tolerância ao déficit hídrico no grupo Carioca (*Phaseolus vulgaris* L.), relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular**. 2019. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

O déficit hídrico prejudica o desenvolvimento e a produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*). No Brasil o grupo Carioca, vem sendo utilizado em programas de melhoramento desde a década de 60, com genótipos tolerantes selecionados pelo rendimento de biomassa da planta sob o estresse. Análises fenotípicas e moleculares em feijoeiro sob o déficit hídrico focando no sistema radicular vem sendo desenvolvidas, uma vez que, a tolerância torna-se mais expressiva se forem feitas observações *belowground*. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram: (1) selecionar genótipos de feijão Carioca contrastantes para a tolerância ao déficit hídrico (parâmetros fisiológicos e morfológicos); (2) analisar a expressão de genes no sistema radicular das plantas sob o estresse. Através do sequenciamento usando a plataforma BARCBean6K_3 Beadchip, 2.251 SNPs foram identificados em vinte e seis genótipos de Carioca e usados na análise da estrutura populacional. Em relação a tolerância ao déficit hídrico, treze genótipos de Carioca e três genótipos tolerantes ao déficit hídrico BAT477, SEA5 e Pinto Saltillo, no estágio V3, foram submetidos ao déficit hídrico à capacidade de campo de 30% por 15 dias. Os genótipos IAC Carioca 80SH e IPR Juriti apresentaram maior tolerância ao déficit hídrico, enquanto que, os mais suscetíveis foram o BRS-Talismã e Pérola. Foi observada redução do RWC, da taxa fotossintética, da taxa de transpiração e da condutância estomática sob o déficit hídrico. Em relação ao sistema radicular, tanto o comprimento como a massa seca foram significativamente maiores nas plantas tolerantes ao déficit hídrico. Foi observado que em genótipos de feijão Carioca tolerantes ao déficit hídrico, genes expressos no sistema radicular que participam de processos metabólicos relacionados a adaptação a estresses abióticos (fatores de transcrição, transportadores de membrana, biossíntese de ABA e ciclo celular) possuem um perfil de expressão gênica diferente de genótipos suscetíveis. Nossos resultados demonstraram que há variabilidade entre genótipos de feijão Carioca, que eles são contrastantes para a tolerância ao déficit hídrico e que a regulação da expressão gênica no sistema radicular em genótipos tolerantes é fundamental para adaptação ao estresse.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. Feijão carioca. SNPs. Déficit hídrico. Expressão gênica.

ABSTRACT

PEREIRA, A. C. V. Z. **Genetic diversity and gene expression analysis of Carioca common bean** (*Phaseolus vulgaris* L.**) genotypes under drought stress focus on root system**. 2019. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Water deficit impairs the development and yield of common bean (Phaseolus vulgaris L.). In Brazil, the Carioca group has been used in breeding programs since the 1960s, with tolerant genotypes selected by plant biomass yield under stress. Phenotypic and molecular analyzes in bean under water deficit focusing on the root system have been developed, since tolerance becomes more expressive if belowground observations are made. In this context, the objectives of this study were: (1) to select contrasting Carioca bean genotypes for tolerance to water deficit (physiological and morphological parameters); (2) analyze gene expression in plant root system under drought stress. Through sequencing using the Beadchip BARCBean6K_3 platform, 2,251 SNPs were identified in twenty-six Carioca genotypes and used for population structure analysis. Regarding water deficit tolerance, thirteen Carioca genotypes and three water deficit tolerant genotypes BAT477, SEA5 and Pinto Saltillo, at stage V3, were subjected to water deficit at 30% field capacity for 15 days. The genotypes IAC Carioca 80SH and IPR Juriti showed higher tolerance to water deficit, while the most susceptible were BRS-Talismã and Pérola. Reduction of RWC, photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal conductance were observed under water deficit. Regarding the root system, both length and dry mass were significantly higher in tolerant plants to water deficit. It was observed that in Carioca bean genotypes tolerant to water deficit, genes expressed in the root system that participate in metabolic processes related to adaptation to abiotic stresses (transcription factors, membrane transporter, ABA biosynthesis and cell cycle) have an expression profile different from susceptible genotypes. Our results demonstrated that there is variability among Carioca bean genotypes, that they are contrasting for water deficit tolerance and that the regulation of gene expression in root system of tolerant genotypes is fundamental for stress adaptation.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Carioca bean. SNPs. Drought stress. Gene expression.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. REVISÃO DA LITERATURA 19
2.1.1. Importância do feijoeiro, diversidade genética e centros de origem 19
2.1.2. Melhoramento genético do feijão comum para tolerância ao déficit hídrico 21
2.1.3. Déficit hídrico no feijoeiro e importância de se estudar sistema radicular 22
2.1.4. Seleção de genes relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular e resposta ao estresse com base em SSH e RNASeq em raízes de feijoeiro (BAT477 x Carioca 80SH) sob déficit hídrico .. 24
2.1.5. Análise da estrutura de populações pela detecção de SNPs 26
REFERÊNCIAS 28
3. ESTUDO 1: Análise da diversidade genética, caracterização fisiológica e morfológica de genótipos de feijão carioca sob déficit hídrico 37
Resumo 37
3.1. Introdução 38
3.2. Materiais e Métodos 39
3.2.1 Sequenciamento via BARCBean6K_3 Beadchip para a detecção de SNPs 39
3.2.2 Material vegetal e condições de déficit hídrico do experimento 39
3.2.2.1 Análise inicial do perfil de tolerância ao déficit hídrico 39
3.2.3 Parâmetros fisiológicos avaliados nas plantas sob o estresse 41
3.2.3.1 Conteúdo relativo de água 41
3.2.3.2 Trocas gasosas e taxa fotossintética 42
3.2.3.3 Massa seca de parte aérea e raízes 42
3.2.3.4 Comprimento radicular 42
3.2.3.5 Eficiência no uso da água e Eficiência da Carboxilação 42
3.2.4 Análises estatísticas 43
3.3. Resultados e Discussão 43
3.4. Conclusões 58
Referências 59
4 ESTUDO 2: Análise do perfil de expressão gênica por RT-qPCR em raízes de feijão carioca sob déficit hídrico 68
Resumo 68
4.3 Introdução 68
4.4 Materiais e Métodos 70
4.2.1 Material vegetal e condições de déficit hídrico do experimento 70
4.2.2 Parâmetros fisiológicos avaliados nas plantas sob o estresse 70
4.2.3 Extração de RNA total e Síntese de cDNA 70
4.2.4 Desenho dos *Primers* 71
4.2.5 Análise da expressão de 13 genes em raízes de feijão Carioca por RT-qPCR 73
4.3 Resultados e Discussão 73
4.3.1 Análises morfo-fisiológicas em 4 genótipos de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico 73
4.3.2 Análise da expressão de 13 genes por RT-qPCR em raízes de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico 76
4.4 Conclusões 85
Referências 86

1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus* ssp.) é uma leguminosa muito importante utilizada para consumo humano, as principais regiões produtoras são a Europa Oriental, a África do Sul e a América Latina (BROUGHTON et al., 2003; HANAI et al., 2010). No Brasil, o feijão comum é a proteína de origem vegetal mais consumida, e em combinação com o arroz, se torna a base da alimentação diária dos brasileiros (BURLE et al., 2010).

A produção no Brasil ocorre principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Considerando a safra 2018/2019, estima-se que a área total plantada de feijão seja de 376,2 mil de hectares, apresentando uma redução de 18.6% em relação à safra anterior. A produtividade da safra nacional foi de 1.498 Kg/ha com produção de 563,3 mil toneladas, isso representa redução de 29,9% em relação à última safra (CONAB, 2019).

O déficit hídrico tem sido descrito como o principal fator que limita a produtividade de muitas culturas, entre elas o feijão comum, a suscetibilidade das plantas ao estresse é dependente da combinação entre a intensidade do estresse e o estádio de desenvolvimento da planta (DEMIREVSKA et al., 2009; SHAO, 2009). A produção do feijão pode ocorrer em regiões onde a disponibilidade de água é irregular, seja por escassez de chuva ou por falta de irrigação (BRAY et al., 2000; SOUZA et al., 2003; ZLATEV; STOYANOV, 2005). Para a manter a produtividade, a busca por genótipos adaptados torna-se essencial.

A adaptação ao déficit hídrico envolve uma série de modificações fisiológicas e bioquímicas na planta que são controladas pela regulação da expressão de genes que, por sua vez, alteram o metabolismo celular (BRAY et al., 1993; TAIZ; ZEIGER, 2004; ANJUM et al., 2011). Além de mudanças fisiológicas e bioquímicas, alterações fenotípicas como a redução da área foliar e o aumento do crescimento de raízes foram observadas em plantas tolerantes (WHITE et al., 1994; BLUM, 2010; KONZEN et al., 2019).

No cenário atual, a preocupação com o aquecimento global foi o ponto de partida para o desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de selecionar genótipos tolerantes ao déficit hídrico e altas temperaturas. Entre os centros internacionais, destacam-se o CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) e o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) que desenvolvem programas de melhoramento para a obtenção de genótipos de feijão comum tolerantes ao déficit hídrico (BEEBE et al., 2008).

No Brasil, em relação ao melhoramento do feijão Carioca, os primeiros experimentos foram iniciados logo após a sua descoberta na década de 60 (parceria entre a Casa da

Agricultura de Ibirarema (CATI) e o Instituto Agronômico de Campinas (IAC)). Devido ao sucesso no campo para resistência a pragas comuns na época e pela boa produtividade, na década de 70 o feijão do tipo carioca já havia se tornado o mais cultivado e o mais consumido no Estado de São Paulo (BULISANI, 2008). Atualmente, além do IAC outros centros de pesquisa desenvolvem estudos com feijão comum no Brasil como o Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), a Empresa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e o Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN). Além de resistência a pragas esses centros buscam selecionar genótipos tolerantes a estresses abióticos, incluindo o déficit hídrico.

Parâmetros fisiológicos como acúmulo de biomassa, índice da área foliar e quantidade de vagens por planta são usados como critérios de seleção de genótipos (WHITE et al., 1994; BLUM, 2010; ASSEFA et al., 2013) e, desse modo, linhagens cada vez mais tolerantes têm sido selecionadas (ACOSTA-GALLEGOS e WHITE, 1995; SINGH et al., 2001; TERÁN e SINGH, 2002; BEEBE et al., 2008; ACOSTA-DÍAZ et al., 2009). No Brasil, os programas de melhoramento se baseiam em índices relativos ao aumento de biomassa na planta sobre estresse para a seleção de genótipos tolerantes, enquanto que em programas internacionais, há algum tempo à seleção tem sido feita com base na estrutura do sistema radicular (SINGH et al., 2001; RAO et al., 2006; ACOSTA-DÍAZ et al., 2009).

Guimarães e Zimmerman (1985) observaram que genótipos de feijão comum com maior tolerância ao déficit hídrico apresentavam sistemas radiculares mais profundos com 20 a 60 cm em comparação com o suscetível. Um aumento do crescimento de raízes (lateral e em profundidade) foi observado em genótipos tolerantes de feijoeiro ao déficit hídrico (ACOSTA-DÍAZ et al., 2009). Estudar a estrutura radicular de feijão do tipo carioca, selecionados para a tolerância ao déficit hídrico avaliando não somente características fenotípicas, mas também moleculares através da análise da expressão gênica, será essencial na seleção de genes relacionados ao processo de adaptação ao déficit hídrico em plantas tolerantes.

Em um estudo realizado por Perseguini et al. (2011), a diversidade genética de genótipos de feijão do tipo carioca foi acessada através da análise com marcadores moleculares, revelando que há diversidade genética entre os genótipos que pode ser explorada para a seleção de plantas para características de interesse. Sabendo-se que ao longo de mais de cinco décadas de melhoramento do Carioca o acúmulo de biomassa tem ‘negligenciado’ o *bellow ground*, dessa forma, impactando negativamente sobre características de arquitetura radicular que afetam diretamente a aquisição de nutrientes e tolerância a estresses ambientais como a seca. Caracterizar esse sistema em pelo menos uma parte do material disponível permitirá a seleção de genótipos contrastantes em potencial.

O Laboratório de Biologia Celular e Molecular do CENA/USP possui uma linha de pesquisa para o estudo de feijoeiro com uma coleção de germoplasma de feijoeiro, constituída a partir de materiais de origens diversas, tanto nacionais (IAC, IAPAR, EPAMIG, CENARGEN) como internacionais (CIAT e USDA). Projetos que envolvem o estudo do efeito de estresses bióticos e abióticos nesta cultura estão sendo desenvolvidos. Recentemente, a análise fenotípica do sistema radicular de feijoeiro sob o déficit hídrico revelou que mediante a condição de estresse a planta prioriza o desenvolvimento do sistema radicular e somente quando este está estabelecido, inicia-se o processo de crescimento da parte área (KONZEN, 2019).

Além da análise fenotípica, estudos voltados à análise da expressão de genes em plantas de feijoeiro sob o déficit hídrico vêm sendo desenvolvidos em nosso laboratório. Recchia et al. (2013a), avaliaram o perfil da expressão de genes em dois genótipos contrastantes (BAT477 e Carioca 80 SH) pelo método de biblioteca subtrativa (SSH), identificando genes que participam de processos biológicos, do metabolismo celular, genes regulados sob estresse entre outros. Outro trabalho consistiu na análise do transcritoma em raízes de um genótipo tolerante de feijoeiro (BAT477) por RNASeq, para avaliar se há algum efeito da associação simbiótica das plantas com fungos micorrízicos na aquisição de tolerância ao déficit hídrico (RECCHIA et al., 2018). Nesse trabalho, os transcritomas globais por RNASeq para cada um dos quatro tratamentos (plantas inoculadas ou não, sob seca ou controle irrigado), já foram obtidos e uma análise parcial identificando os genes mais expressos foi realizada. O perfil de expressão do genótipo tolerante BAT 477 sob estresse (não inoculado) x BAT 477 controle (não inoculado), revelou um total de 21.758 genes diferencialmente expressos, sendo que 5.780 foram ativados na planta sob estresse. Partindo dos resultados obtidos nesses dois trabalhos e em dados disponíveis na literatura, foram selecionados alguns genes para uma análise inicial de expressão gênica por RT-qPCR em genótipos de carioca sob déficit hídrico.

Entre os genes que são ativados em plantas sob déficit hídrico estão os fatores de transcrição do grupo DREB (*Dehydration Responsive Element Binding Protein*). Alguns genes *DREB* de *P. vulgaris* têm sido isolados e caracterizados no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do CENA/USP, concentrando os estudos nos efeitos dos estresses por déficit hídrico, alta salinidade e baixa temperatura em feijoeiro (CALDAS; TSAI, 2009; CALDAS et al., 2010; CALDAS; TSAI, 2011; CALDAS; TSAI, 2012; KONZEN et al., 2014; CALDAS et al., 2016). A análise funcional de um gene *DREB* do grupo 6 (*PvDREB6A)* foi conduzida e a superexpressão desse gene aumentou a tolerância das plantas transgênicas de Arabidopsis ao déficit hídrico, alta salinidade e a baixa temperatura. A localização subcelular revelou a localização nuclear da proteína e o ensaio EMSA validou que a proteína é um fator de

transcrição (ZAKIR-PEREIRA et al., 2013a; 2013b). Outro trabalho com genes *DREB*, que consiste no mapeamento genético para a detecção de SNPs candidatos associados aos genes *PvDREB* foi concluído. Alguns genes DREB foram selecionados para este estudo e após as análises, o gene *PvDREB6B*, se destacou devido a uma grande quantidade de polimorfismos em sua sequência. Esse gene foi sequenciado em 132 genótipos de feijoeiro e análises evolutivas associando dados fenotípicos, climáticos e geográficos foram conduzidas (KONZEN et al., 2019).

Neste sentido, para este trabalho foram utilizados os dados obtidos previamente com as análises do perfil de expressão gênica usando bibliotecas subtrativas de cDNA (SSH) e RNAseq em raízes de feijoeiro (BAT477 x Carioca 80SH) sob déficit hídrico, bem como, dados disponíveis na literatura para a seleção de genes candidatos em cinco categorias principais (genes relacionados a divisão celular, genes que promovem a organização e expansão da parede celular, fatores de transcrição, transportadores de membrana e síntese de hormônios). Para a genotipagem, a informação gerada pelo sequenciamento para a detecção de SNPs foi usada para determinar a diversidade de genótipos do grupo carioca. O trabalho foi dividido em dois estudos. Estudo 1: Análise da diversidade genética e efeito do déficit hídrico em diferentes genótipos de feijão carioca; Estudo 2: Análise do perfil de expressão gênica por RT-qPCR em raízes de feijão tipo carioca sob déficit hídrico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1.1. Importância do feijoeiro, diversidade genética e centros de origem

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à subclasse *Rosidae*, a ordem *Fabales*, a família *Fabaceae* e ao gênero *Phaseolus* (Cronquist, 1988). Esse gênero compreende aproximadamente 70 espécies, com apenas cinco sendo cultivadas atualmente: *P. coccineus* (Feijão Ayocote), *P. acutifolius* (Feijão Tepari), *P. dumosus*, *P. vulgaris* e *P. lunatus* (Feijão de Lima), para essas duas últimas espécies foram descritos dois eventos de domesticação independentes (WESTPHAL, 1974; DEUBOCK, 1991; GEPTS, 2014; BITOCCHI et al., 2017). O gênero Phaseolus sp., tem sido considerado um modelo para o estudo da evolução das culturas uma vez que, apresenta eventos de domesticação paralelos múltiplos e independentes (BITOCCHI, 2017).

O feijão comum selvagem está distribuído em uma ampla área geográfica que se estende desde o norte do México até o nordeste da Argentina (TORO et al., 1990). Evidências apontam que a domesticação ocorreu no México com posterior distribuição para a América do Sul (GENTRY, 1969). No Brasil, segundo evidências arqueológicas e genéticas, a espécie foi introduzida a partir do norte da América do Sul ou da América Central, com pouca influência da região dos Andes Centrais e Meridionais (FREITAS, 2006). Uma análise de diversidade e estrutura genética de *landraces* brasileiras usando marcadores microssatélites revelou que existe diversidade genética intermediária nos genótipos em relação ao centro primário de diversidade, sendo o Brasil considerado como um centro secundário de diversidade genética do feijão (BURLE et al., 2010).

A produção de feijão concentra-se principalmente nos países da Europa Oriental, África do Sul e América Latina (HANAI et al., 2010). Em 2016, a produção mundial foi de aproximadamente 270 milhões de toneladas, com as Américas representando 26% do total (FAOSTAT, 2018). Atualmente, o maior produtor mundial da cultura é a Índia com 3,3 milhões de toneladas e, em segundo lugar o Brasil com 3 milhões de toneladas (FAO, 2016). O Brasil é o principal consumidor do produto (16 Kg por habitante ao ano) e parte do que foi consumido em 2014 (cerca de 500 mil toneladas) teve que ser importado para suprir a demanda nacional (BRASIL, 2010). Desse modo, é necessário o aumento da produtividade do grão nas áreas destinadas ao cultivo no Brasil para suprir a demanda atual do mercado.

Em termos nutricionais, o feijão é considerado altamente nutritivo com quase o dobro dos níveis de proteínas e maior quantidade de micronutrientes como fósforo, ferro, zinco, magnésio, cobre e cálcio se comparado aos cereais, possui menor teor de gordura do que a soja ou amendoim, sendo a principal leguminosa usada para o consumo humano direto (BROUGHTON et al., 2003; BLAIR et al., 2009; HANAI et al., 2010). Além disso, o feijão está entre os alimentos vegetais que fornecem quantidade significativa do aminoácido Lisina, que é indispensável na síntese de proteínas (MESSINA, 2014). Entre os benefícios a saúde associado ao consumo de feijão está o controle da glicemia e diabetes, a redução do colesterol (redução LDL sem afetar os níveis do HDL) e a prevenção contra o câncer (JENKINS et al., 1980; LANZA et al., 2006; BAZZANO et al., 2011; THOMPSON et al., 2012).

Para o *P. vulgaris*, evidências demonstradas através de estudos que se basearam na identificação de proteínas na semente, nos traços agronômicos, na morfologia e na identificação de diferentes marcadores moleculares comprovaram a existência de dois eventos de domesticação independentes em duas regiões hemisféricas distintas (GEPTS e DEBOUCK, 1991; SINGH et al., 1991; GEPTS et al., 1996; PAPA; GEPTS, 2003; KWAK e GEPTS, 2009). Dois pools gênicos em duas regiões que divergiram antes da domesticação, mesoamericano e Andino, são reconhecidos atualmente (BITOCCHI et al., 2012; SCHMUTZ, 2014). Esses dois pools gênicos são caracterizados pelo isolamento parcial da reprodução que pode ser identificada em ambas: plantas do tipo selvagem e domesticadas (GEPTS; BLISS, 1985).

Schmutz et al. (2014) sugeriram a Mesoamerica como o provável local de origem do feijão comum; acredita-se que a divergência entre o pool gênico selvagem Mesoamericano e Andino ocorreu a 165.000 anos atrás, com um pequeno efeito fundador e um forte evento de *bottleneck*, que explicam a baixa diversidade genética encontrada no pool gênico Andino. No entanto, análises da diversidade genética demonstraram a existência de uma grande diversidade no pool gênico mesoamericano (BITOCCHI et al., 2012; BITOCCHI et al., 2013). Essa informação é muito importante para programas de melhoramento, uma vez que essa grande diversidade, poderá ser revertida em um elevado potencial para o desenvolvimento de novas variedades.

2.1.2. Melhoramento genético do feijão comum para tolerância ao déficit hídrico

Para muitas culturas os estresses abióticos como déficit hídrico, alta/baixa temperatura e alta salinidade afetam o crescimento, o desenvolvimento e consequentemente a produtividade. Em relação ao feijão comum, o principal fator que leva a diminuição da produtividade é o déficit hídrico e o nível de diminuição desse rendimento é determinado pela intensidade e tempo de duração do estresse (BRAY et al., 2000; MIKLAS et al., 2006; BEEBE et al., 2008).

Há algum tempo um dos grandes desafios para os programas de melhoramento e também o seu principal objetivo tem sido aumentar o rendimento das plantas sob déficit hídrico (CATTIVELLI et al., 2008). Se por um lado a seleção natural sob essas condições favorece o desenvolvimento de mecanismos para adaptação e sobrevivência, por outro lado, os programas de melhoramento focam na obtenção de plantas com maior rendimento (BLUM, 2010).

Desde o início do melhoramento de feijoeiro nas regiões semiáridas do México, novas cultivares foram selecionadas a partir da raça Durango, obtendo-se acessos com tolerância intermediária ao déficit hídrico (BEEBE et al., 2013). No melhoramento de cultivares derivados do pool gênico mesoamericano, na América Central, Nordeste do Brasil e Caribe, grãos de feijão vermelho, preto e carioca estão sendo selecionados com no mínimo o dobro do rendimento sob estresse severo quando comparado ao respectivo controle (BEEBE et al., 2008).

Características morfológicas e fisiológicas relacionadas à adaptação ao déficit hídrico em feijão comum estão associadas ao crescimento, à distribuição da biomassa e ao rendimento (BEEBE et al., 2010). Durante o processo de seleção, são considerados bons parâmetros para identificar genótipos tolerantes ao déficit hídrico, o acúmulo de biomassa e o índice da área foliar, com associações positivas entre o acúmulo de biomassa e o rendimento de sementes nas plantas de feijão sob estresse (WHITE et al., 1994; RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998; BLUM, 2010). Geralmente, na seleção para genótipos tolerantes ao déficit hídrico, maior atenção é dada para o acúmulo de biomassa pelo fato de estar correlacionada ao rendimento de sementes. Assefa et al. (2013), demostraram que o índice de colheita de vagens, pode ser usado como um bom critério para a identificação de genótipos de feijão tolerantes ao déficit hídrico. Berny et al. (2019), avaliaram o efeito do déficit hídrico intermitente e terminal na arquitetura genética da alocação e remobilização de fotoassimilados para o desenvolvimento das vagens de feijão, como resultado foram encontrados 9 QTLs (*Quantitative trait loci*) relacionados ao índice de colheita de vagens e 8 QTLs relacionados a rendimento, sendo que 3 deles se agruparam com os QTLs do índice de colheita de vagens. Até o momento, nenhum critério de

seleção relacionado ao sistema radicular de feijoeiro tem sido usado em programas de melhoramento para a seleção de genótipos tolerantes ao déficit.

A habilidade de crescimento das raízes em profundidade e a sua arquitetura, foram identificadas como mecanismos chaves para melhorar a tolerância ao déficit hídrico em diferentes tipos de plantas, incluindo o feijão comum, em que genótipos mais produtivos apresentaram raízes com maior comprimento nas plantas sob estresse (SPONCHIADO et al., 1989; RAO et al., 2001; FRAHM et al., 2004; BEEBE et al., 2010). Em condições de déficit hídrico severo, foi demostrado que os genótipos de feijoeiro tolerantes geralmente possuem um sistema radicular de 20 a 60 cm mais profundo e ramificado em comparação com genótipos suscetíveis (GUIMARÃES; ZIMMERMAN, 1985; ACOSTA-DÍAZ et al., 2009).

Em relação ao grupo carioca, em uma comparação entre um genótipo considerado tolerante ao déficit hídrico, o Pinto villa (que é uma combinação entre a raça Durango com o germoplasma Andino) e um genótipo de carioca suscetível, foi observado que o desenvolvimento do sistema radicular no genótipo Pinto villa foi maior do que no carioca sob condições de estresse (ACOSTA-GALLEGOS et al., 1995; MONTERO-TAVERA et al., 2008). Sponchiado et al. (1989), mostraram que há uma correlação positiva entre o crescimento em profundidade da raiz e o rendimento de sementes, bem como, o desenvolvimento da planta sob estresse.

Pouca informação a respeito da tolerância ou suscetibilidade dos genótipos de carioca ao déficit hídrico foi encontrada na literatura até o momento. Em geral o feijão comum é considerado uma cultura sensível ao déficit hídrico e isto se deve ao sistema radicular pouco desenvolvido (GUIMARÃES, 1992; SINGH, 1995). Os genótipos IAC Carioca Alvorada, IAC Carioca Tybatã, IAC Imperador e Pérola foram considerados tolerantes ao déficit hídrico (GONÇALVES, 2013; PESQUISADORES, 2014; VALE et al., 2012). Em relação aos genótipos suscetíveis, foram considerados o IPR Juriti e o IAPAR 81 (VALE et al., 2012). No entanto, Moraes (2010) descreveu o genótipo IAPAR 81 como sendo tolerante ao déficit hídrico. Devido à falta de informação e/ou contradição em relação à tolerância e suscetibilidade, é necessário a realização de experimentos para discriminar genótipos de carioca contrastantes. Segundo o Registro Nacional de Cultivares – CultivarWeb - existem 354 registros para *Phaseolus vulgaris L*. sendo que mais de 60 registros correspondem para feijão do tipo carioca, desse modo existe diversidade que pode ser explorada (BRASIL, 2019).

2.1.3. Déficit hídrico no feijoeiro e importância de se estudar sistema radicular

O déficit hídrico pode ser definido como a disponibilidade de água inadequada para a planta, e isso geralmente acontece devido à baixa precipitação de chuvas, à capacidade de armazenamento no solo em quantidade, à umidade e a distribuição ao longo do seu ciclo de vida (TAIZ; ZAIGER, 2004). No feijão comum, a severidade do estresse está relacionada ao tempo de exposição e ao estádio fenológico da planta (BEEBE et al., 2008). O déficit hídrico diminui a disponibilidade de água para a planta comprometendo funções celulares, e consequentemente a viabilidade da célula (SHINOZAKI; YAMAGUSHI-SHINOZAKI, 1997).

Os mecanismos de resposta da planta sob déficit hídrico podem ser separados em três categorias: escape, proteção e tolerância. O escape é definido como a habilidade da cultura completar seu ciclo de vida antes do tempo, evitando condições mais severas de déficit hídrico (antecipação do florescimento); a proteção seria a habilidade de anular os efeitos do déficit hídrico mantendo o potencial hídrico dos tecidos elevado apesar da baixa humidade no solo; a tolerância está relacionada à adaptação incluindo o ajuste osmótico, a redução no conteúdo de água do vacúolo e a proteção contra a desidratação (BUCHANAN; GRUISSEN; JONES, 2000; BEEBE et al., 2013).

Em plantas tolerantes, a adaptação ao déficit hídrico envolve uma série de modificações a nível molecular e celular que são reguladas pela a ativação da expressão de múltiplos genes (BRAY et al., 1997). Além disso, sob déficit hídrico ocorrem mudanças fenotípicas (murcha, redução da área foliar e aumento do crescimento da raiz), fisiológicas (alterações no conteúdo relativo de água e no vazamento de eletrólitos) e bioquímicas (produção de moléculas antioxidantes capazes de combater as espécies reativas de oxigênio) que tornam a planta capaz de sobreviver e se reproduzir mesmo sob estresse (BUCHANAN; GRUISSEN; JONES, 2000; BARTELS; SUNKAR, 2005; SUBBARAO et al., 2005).

Foi observado que o déficit hídrico nos estádios iniciais do desenvolvimento do feijoeiro estimula o crescimento do sistema radicular (KONZEN et al., 2019). Uma análise do perfil da expressão gênica em raízes de feijoeiro sob déficit hídrico revelou que há um aumento na expressão de genes envolvidos na embriogênese, organização do citoesqueleto, proliferação celular, crescimento e diferenciação celular, ciclo celular, morfogênese entre outros (RECCHIA et al., 2013a).

O crescimento da raiz em profundidade e a distribuição lateral são adaptações que foram observadas em plantas de feijoeiro tolerantes ao déficit hídrico (SPONCHIADO et al., 1989). A arquitetura e o desenvolvimento do sistema radicular contribuem para aumentar a eficiência na captação de água do solo, e com isso, manter o nível de água na célula para realizar processos

fisiológicos e bioquímicos vitais para a sua sobrevivência e reprodução (SPONCHIADO et al., 1989; HUANG et al., 1997).

Correlações entre arquitetura da raiz e o aumento de produtividade foram estabelecidas para o feijoeiro. Um exemplo clássico foi descrito para eficiência na captação do fósforo. Estudos em genótipos contrastantes revelaram que há uma variação genética para o crescimento e arquitetura de raízes de feijão comum, sendo que genótipos com maior eficiência na captação do fósforo possuem raízes mais vigorosas, com mais ramificações e um grande número de ápices (LYNCH; BEEM, 1993). Características relacionadas à arquitetura de raízes, observadas em 19 genótipos de feijoeiro foram avaliadas, e têm sido utilizadas para a seleção de plantas tolerantes a doenças em programas de melhoramento (VIEIRA et al., 2008).

Neste sentido, estudar a arquitetura e o desenvolvimento da raiz em diferentes genótipos de feijão do tipo carioca sob déficit hídrico, levando em consideração o fenótipo das plantas e analisando o perfil da expressão de genes, será muito importante para determinar os mecanismos de resposta e adaptação mediante ao estresse, bem como tentar compreender a associação positiva entre estrutura radicular e tolerância ao déficit hídrico, visando no futuro agregar essa informação em programas de melhoramento.

2.1.4. Seleção de genes relacionados ao desenvolvimento do sistema radicular e resposta ao estresse com base em SSH e RNASeq em raízes de feijoeiro (BAT477 x Carioca 80SH) sob déficit hídrico

Ferramentas de Biologia molecular têm sido utilizadas em nosso laboratório para a análise do perfil de transcritos em raízes de feijoeiro (BAT477 x Carioca 80SH) contrastantes para a tolerância ao déficit hídrico (RECCHIA et al., 2013b; RECCHIA et al., 2018). Foram encontradas sequências de fatores de transcrição, metabolismo de carboidratos, aquaporinas, divisão celular, organização e expansão da parede celular, transportadores de Membrana e síntese de hormônios (RECCHIA et al., 2013b; RECCHIA, 2018).

Mediante condições de déficit hídrico, a planta deve ser capaz de sobreviver e a adaptação envolve alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas. Muitas modificações ocorrem primeiramente a nível celular, com a regulação da expressão de genes mediada por fatores de transcrição (TFs) que interagem com elementos *cis* nas regiões promotoras *upstream* dos genes-alvo, levando a regulação da expressão de muitos genes *downstream* com resposta

secundária, proporcionando tolerância ao estresse (ROYCHOUDHURY; PAUL; BASU, 2013). Famílias de TFs em plantas tem um papel essencial na percepção do sinal gerado pelo estresse abiótico. Membros das famílias *basic leucine zíper* (bZIP), APETALA 2/*ethylene-responsive element binding factor* (AP2/ERF), NAM/ATAF1/CUC2 (NAC), WRKY, MYB, Cys2(C2) His2(H2)- tipos de dedo de zinco (ZFs), e *basic helix-loop-helix* (bHLH) tem sido caracterizados em relação ao seu papel na regulação em resposta a estresses abióticos, e o aumento da expressão dos TFs dessas famílias está relacionado a um aumento da tolerância da planta ao estresse (LINDEMOSE et al., 2013).

Em plantas de feijoeiro foram observadas adaptações morfológicas em resposta ao déficit hídrico, como o crescimento da raiz em profundidade e a distribuição lateral (SPONCHIADO et al., 1989; KONZEN et al., 2019). A análise da expressão de genes que contribuem para o desenvolvimento de raízes em condições de estresse, genes envolvidos na diferenciação celular e expansão da parede celular será importante para a identificação de genótipos em potencial para a tolerância.

A auxina é um hormônio vegetal que coordena processos essenciais para o crescimento, desenvolvimento e adaptação das plantas e ela afeta diretamente a divisão celular, alongamento e diferenciação que induzem a morfogênese (TAIZ; ZEIGER, 2004; DE JONGM; LEYSER, 2012). Em condições de estresse osmótico, foi observado que a auxina regula a abertura dos estômatos, atua no posicionamento de raízes laterais e de aquaporinas na membrana (NASER; SHANI, 2016).

Aquaporinas são proteínas de membrana que fazem o transporte de água e pequenas moléculas através das membranas celulares (MAUREL et al., 2008). Em plantas, as aquaporinas participam de processos de crescimento e diferenciação celular, regulação hidráulica da planta e transpiração (MAUREL et al., 2008; LI et al., 2014). Em condições de déficit hídrico, têm sido descritos dois mecanismos opostos de resposta em relação à expressão de genes aquaporinas em plantas. A ativação da expressão levaria ao aumento do número de aquaporinas na membrana celular, promovendo o transporte de água, por outro lado, a repressão da expressão diminuiria a quantidade de aquaporinas prevenindo a perda de água pela célula (HACHEZ et al., 2006).

As células vegetais apresentam parede celular que é composta por microfibrilas de celulose, hemicelulose, pectinas e expansinas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Pectina metilesterases (PMEs) são enzimas que atuam sobre a pectina na parede celular produzindo diferentes isoformas que possuem um papel importante na fisiologia da planta (GIOVANE et al., 2004). O aumento da expressão de genes que codificam PMEs em ervilhas foi correlacionado com a

separação das células de fronteira das raízes, e a inibição parcial deste gene levou à redução do alongamento de raízes e alterou a morfologia celular (WEN et al., 1999).

Expansinas são uma família de proteínas que catalisam em longo prazo a expansão da parede celular em plantas. Foram identificadas duas expansinas específicas em raízes de soja (*GmEXP1* e *GmEXP2*) e foi observado que o aumento da expressão destes genes contribuiu para o desenvolvimento das raízes em condições normais de crescimento (LEE et al., 2003; GUO te al., 2011).

Desse modo, a quantificação desses genes em raízes de feijoeiro será importante para entender como a regulação da expressão pode influenciar direta ou indiretamente na aquisição de tolerância ao déficit hídrico.

2.1.5. Análise da estrutura de populações pela detecção de SNPs

Polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs), por inserção/deleção, são marcadores genéticos ideais para o mapeamento genético e para acessar a diversidade genética em plantas, na teoria um SNP local poderia resultar em quatro variações nucleotídicas, mas na prática geralmente são bialélicas. Marcadores SNPs são úteis em uma variedade de aplicações, incluindo a construção de mapas genéticos de alta resolução, características de mapeamento, diagnóstico genético, análise da estrutura genética de populações e análise filogenética (RAFALSKI, 2002; CHAGNE´ et al., 2007).

Para o feijoeiro, a detecção de SNPs tem sido muito usada no estudo de populações. Em uma análise da diversidade genética em feijão comum, conjuntos de SNPs que incluem 94 fontes variáveis testadas (CORTE´S et al., 2011), com cerca de 300 sequências baseadas em genes de BAT93 e JaloEEP558 foram identificados (McCONNELL et al., 2010). Blair et al. (2013), realizaram uma análise para acessar a diversidade genética de feijoeiro, um total de 736 SNPs foram encontrados nos 236 genótipos de feijão usados no estudo. Uma vez que os SNPs candidatos são selecionados, é possível desenvolver uma análise detalhada da estrutura genética da população e buscar genes de interesse para uma determinada característica.

No Laboratório de Biologia Celular e Molecular do CENA/USP trabalhos com feijão comum vêm sendo desenvolvidos avaliando-se o efeito de estresses bióticos e abióticos em genótipos constrastantes para a busca de genes relacionados a processos que levam a aquisição de tolerância das plantas ao estresse. Em relação a estresses abióticos, genes do grupo DREB (*Dehydration Responsive Element Binding Protein*) que codificam para uma grande família de

fatores de transcrição estão sendo estudados em feijoeiro (CALDAS; TSAI, 2011; ZAKIR-PEREIRA et al., 2013a; 2013b; KONZEN et al., 2019; CALDAS et al., 2016). Polimorfismos SNP foram identificados para os genes *PvDREB1*, *PvDREB2A*, *PvDREB5* e *PvDREB6B*; devido ao grande número de polimorfismos o gene *PvDREB6B* foi resequenciado em genótipos selvagens domesticados de feijoeiro revelando diferentes isoformas deste gene em genótipos Andinos e Mesoamericanos (KONZEN et al., 2019).

SNPs relacionados à tolerância ao déficit hídrico já foram identificados em genótipos de feijoeiro selvagens e domesticados (KONZEN et al., 2019). A análise da diversidade genética e do desenvolvimento radicular na população de feijoeiro poderá fornecer informações que no futuro poderão ser usadas em programas de melhoramento para a seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico baseados na arquitetura radicular.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-DÍAZ, E.; ACOSTA-GALLEGOS, A. J.; TREJO-LOPEZ, C.; PADILLA-RAMÍREZ, J. S.; AMADOR-RAMÍREZ, M. D. **A**daptation traits in dry bean cultivars grown under drought stresscaracterísticas de adaptación en variedades de frijol bajo sequía. **Agricultura Técnica en México,** Cidade del Mexico, v. 35, p. 416-425, 2009.

ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; WHITE, J. W. Phenological plasticity as an adaptation by common bean to rainfed environments. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 199–204, 1995.

ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; ADAMS, M. V. Plant traits and yield stability of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under drought stress. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 117, p. 213-219, 1991.

ANJUM, S. A.; XIE, S.; WANG, L.; SALEEM, M. L.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal Agricultural Research**, Kenia, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

ASSEFA, T.; BEEBE, E.S.; RAO, M.I.; CUASQUER, B.J.; DUQUE, C.M.; RIYERA, M.; BATTISTI, A.; LUCCHIN, M. Pod harvest index as a selection criterion to improve drought resistance in white pea bean. **Field Crops Research,** Amsterdam, v. 148, p. 24–33, 2013.

BAZZANO, L. A.; THOMPSON, A. M.; TEES, M. T.; NGUYEN, C. H.; WINHAM, D. M. Non-soy legume consumption lowers cholesterol levels: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, Heidelberg, v. 21, p. 94-103, 2011.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 21, p. 1–36, 2005.

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

BEEBE, S. E.; RAO, I.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 4, art. 35, p. 1-20, 2013. doi: 10.3389/fphys.2013.00035.

BEEBE, S. E.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. In: RIBAUT, J. M.; MONNEVEUX, P. (Ed.). **Drought phenotyping in crops**: from theory to practice. Texcoco, Mexico: Generation Challenge Program, 2010. p. 311-334. (Special Issue on Phenotyping).

BERNY MIER Y TERAN, J. C.; KONZEN, E. R.; PALKOVIC, A.; TSAI, S. M.; RAO, I. M.; BEEBE, S.; GEPTS, P. Effect of drought stress on the genetic architecture of photosynthate allocation and remobilization in pods of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*), a key species for food security. **BMC Plant Biology** JCR, London, v. 19, p. 171, 2019. doi: 10.1186/s12870-019-1774-2.

BITOCCHI, E. R.; BELLUCCI, E.; RODRIGUEZ, M.; MURGIA, M. L.; GIOIA, T.; SANTO, D.; NANNI, L.; ATTENE, G.; PAPA, R. Beans (Phaseolus ssp.) as a model for understanding crop evolution. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 722-743, 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.00722.

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

BITOCCHI, E.; NANNI, L.; BELLUCCI, E.; ROSSI, M.; GIARDINI, A.; SPAGNOLETTI, Z. P.; LOGOZZO, G.; STOUGAARD, J.; MCCLEAN, P.; ATTENE, G. et al. Mesoamerican origin of the common bean (Phaseolus vulgaris L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 109, p. 788–796, 2012.

BLAIR, M. W.; ASTUDILLO, C.; GRUSAK, M.; GRAHAM, R.; BEEBE, S. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 23, p. 197-207, 2009.

BLAIR, M. W.; CORTE´S, J. A.; PENMETSA, R. V.; FARMER, A.; CARRASQUILLA-GARCIA, N.; COOK, D. R. A high-throughput SNP marker system for parental polymorphism screening, and diversity analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, p. 535–548, 2013.

BLUM, A. **Plant breeding for water-limited environments**. New York: Springer Publisher, 2010. 255 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **CultivarWeb** - Registro Nacional de Cultivares – RNC. Brasília, DF, 2019. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 11 ago. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Perfil do feijão do Brasil**. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao/saiba-mais>. Acesso em: 16 jan. 2015.

BRAY, E. A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 103, p. 1035-1040, 1993.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 2, p. 48–54, 1997.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2000. p. 1158–1203.

BROUGHTON, W. J.; HERNANDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (Phaseolus spp.)–model food legumes. **Plant and Soil**, The Hague, v. 252, p. 55–128, 2003.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEN, W.; RUSSELL, L. J. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

BULISANI, E. A. **Feijão carioca** - uma história de sucesso. 2008. Artigo em hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/FeijaoCarioca/index.htm>. Acesso em: 23 jan. 2015.

BURLE, L. M.; FONSECA, J. R.; KAMI, J. A.; GEPTS, P. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 121, p. 801–813, 2010. doi: 10.1007/s00122-010-1350-5.

CALDAS, D. G. G.; GOMES, J. E.; TSAI, S. M. Análisis de la expresión génica de un factor de transcripción DREB en tejidos de frijol sometidos a estrés hídrico. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE GENÉTICA, 14., 2010, Vina del Mar, Chile. **Anais…** Vina del Mar, Chile: ALAG, 2010.

CALDAS, D. G. G.; GOMES, J. E.; TSAI, S. M. Cloning of a *Phaseolus vulgaris* DRE-binding Transcription Factor. In: INTERNATIONAL PLANT MOLECULAR BIOLOGY CONGRESS, 9., 2009, Saint Louis. **Proceedings…** Saint Louis, 2009.

CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M. Sequence and gene expression comparison among four new DREBs cloned from Phaseolus vulgaris. In: KEYSTONE SYMPOSIA ON MOLECULAR AND CELL BIOLOGY, 2011, Keystone, CO. **Proceedings…** Keystone, 2011.

CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M. Temporal and Spatial Regulation Analysis of Four DREBs Cloned from Phaseolus vulgaris Under Three Abiotic Stresses. In: PLANT AND ANIMAL GENOME, 20., 2012, San Diego. **Proceedings…** San Diego, 2012.

CALDAS, D. G. G.; KONZEN, E. R.; RECCHIA, G. H.; ZAKIR-PEREIRA, A. C. V.; TSAI, S. M. **Functional Genomics of Biotic and Abiotic Stresses in *Phaseolus vulgaris***. Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives. 1. ed. Durham: InTech, 2016. v. 1, p. 121-151.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A. M.; FRANCIA, E.; MARÉ, C.; TONDELLI, A.; STANCA, A. M. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, Amsterdan, v. 105, p. 1–14, 2008.

CHAGNE´ D.; BATLEY, J.; EDWARDS, D.; FORSTER, J. W. Single nucleotide polymorphism genotyping in plants. In: ORAGUZIE, N. C.; RIKKERINK, E. H. A.; GARDINER, S. E.; SILVA, H. N. (Ed.). **Association mapping in plants**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 77–94.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Produção de feijão 2018-2019. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos Safra 2018/19,** Brasília, DF, v. 6, n. 9, p. 44, 2019.

CORTE´S, A.; CHAVARRO, C.; BLAIR, M. W. SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 123, n. 5, p. 827-845, 2011.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. Bronx, NY: New York Botanical Gardens, 1988.

DEBOUCK, D. G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. Van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans**: research for crop improvement. Cali: CIAT, 1991. p. 55-118.

DE JONGM, M.; LEYSER, O. **Developmental plasticity in plants**. Woodbury, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. p. 63–73. (Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 77).

DEMIREVSKA, K.; ZASHEVA, D.; DIMITROV, R.; SIMOVA-STOILOVA, L.; STAMENOVA, M.; FELLER, U. Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warszawa, Poland, v. 1, p. 1129-1138, 2009.

FAO. **FAOSTAT**. Crops. Rome, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 15 ago. 2018.

FRAHM, M. A.; ROSAS, J. C.; MAYEK-PÉREZ, N.; LÓPEZ-SALINAS, E.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; KELLY, J. D. Breeding Beans for Resistance to Terminal Drought in the Lowland Tropics. **Euphytica**, Dordrecht, v.136, p. 223-232, 2004.

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

GEPTS, P.; BLISS, F. A. F1 hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. **The Journal of Heredity**, Baltimore, v. 76, p. 47–450, 1985.

GIOVANE, A.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI, C.; RAIOLA, A.; D'AVINO, R.; TAMBURRINI, M.; CIARDIELLO, M. A.; CAMARDELLA, L. Pectin methylesterase inhibitor. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1696, n.2, p.245-52, 2004.

GENTRY, H. S. Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Economic Botany**, Bronx, NY, v. 23, p. 55–69, 1969.

GEPTS, P. Beans, origins and development. In: SMITH, C. (Ed.). **Encyclopedia of Global Archaeology**, New York: Springer Publisher, 2014. p. 822-827.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Origin, domestication, and evolution of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. In: VOYSEST O, Van SCHOONHOVEN A (Ed.). **Common beans**: research for crop improvement. Wallingford: CAB International, 1991. p. 7–53.

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**, Bronx, NY, v. 40, p. 451–468, 1986.

GUIMARÃES, C. M.; ZIMMERMANN, M. J. Deficiência hídrica em feijão. In: REUNION DE TRABAJO SOBRE MEJORAMIENTO EN FRIJOL EN BRASIL CON ENFASIS EM TOLERANCIA A SEQUIA, 1985, Cali. **Anais...** Cali: CIAT, 1985. p. 15-28.

GUIMARÃES, C. M. **Características morfo-fisiológicas do feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.) **relacionadas com a resistência à seca**. 1992. 131 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

GUO, W.; ZHAO, J.; LI, X.; QIN, L.; YAN, X.; LIAO, H. A soybean b-expansin gene GmEXPB2 intrinsically involved in root system architecture responses to abiotic stresses. **The Plant Journal**, Oxford, v. 66, p. 541–552, 2011.

GONÇALVES, J. G. R. **Identificação de linhagens de feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.) **tolerantes à seca**. 2013. 82 p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2013.

HACHEZ, C.; ZELAZNY, E.; CHAUMONT, F. Modulating the expression of aquaporin genes in planta: a key to understand their physiological functions? **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1758, p. 1142-1156, 2006.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, London, n. 41, p. 95-98, 1999.

HANAI, L. R.; SANTINI, L.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; GEPTS, P.; TSAI, S. M.; VIEIRA, M. L. C. Extension of the core map of common bean with EST-SSR, RGA, AFLP, and putative functional markers. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, p. 25–45, 2010.

HUANG, B.; DUNCAN, R. R.; CARROW, R. N. Drought-Resistance Mechanisms of Seven Warm-Season Turfgrasses under Surface Soil Drying: II. Root Aspects. **Crop Science**, Madison, v. 7, p. 1863–1869, 1997.

JENKINS, D. J.; WOLEVER, T. M.; TAYLOR, R. H.; BARKER, H. M.; FIELDEN, H. Exceptionally low blood glucose response to dried beans: comparison with other carbohydrate foods. **British Medical Journal**, London, v. 80, p. 281-578, 1980.

KONZEN, E. R.; RECCHIA, G. H.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G.; BERNY, J. C.; PALKOVIC, A.; GEPTS, P.; TSAI, S. M. DREB genes as candidates for improving drought tolerance in common bean. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative - BIC**, Portland, v. 57, p. 79-80, 2014.

KONZEN, E. R.; RECCHIA, G. H.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G.; BERNY, J. C.; GEPTS, P.; TSAI, S. M. DREB Genes from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) show broad to specific abiotic stress responses and distinct levels of nucleotide diversity. **International Journal of Genomics**, New York, art. ID 9520642, 28 p. 2019. doi: 10.1155/2019/9520642.

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**, Berlin, v. 118, p. 979–992, 2009.

LANZA, E.; HARTMAN, T. J.; ALBERT, P. S.; SHIELDS, R.; SLATTERY, M.; CAAN, B.; PASKETT, E.; IBER, F.; KIKENDALL, J. W.; LANCE, P.; DASTON, C.; SCHATZKIN, A. High dry bean intake and reduced risk of advanced colorectal adenoma recurrence among participants in the polyp prevention trial. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 136, p. 1896-1903, 2006.

LEE, D. K.; AHN, J. H.; SONG, S. K.; CHOI, Y. D.; LEE, J. S. Expression of an expansin gene is correlated with root elongation in soybean. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 31, p. 985-997, 2003.

LI, G.; SANTONI, V.; MAUREL, C. Plant aquaporins: role in plant physiology. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 840, p. 1574–1582, 2014.

LINDEMOSE, S.; O'SHEA, C.; JENSEN, M. K.; SKRIVER, K. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 3, p. 5842-5878, 2013. doi:10.3390/ijms14035842.

LIU, W.; YUAN, J. S.; STEWART JUNIOR, C. N. Advanced genetic tools for plant biotechnology. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 14, p. 781-793, 2013.

LYNCH, J.; VAN BEEM, J. Growth and architecture of seedling roots of common bean genotypes. **Crop Science**, Madison v. 33, p. 1253-1257, 1993.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; LUU, D. T.; SANTONI, V. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 595–624, 2008.

MCCONNELL, M.; MAMIDI, S.; LEE, R.; CHIKARA, S.; ROSSI, M.; PAPA, R.; MCCLEAN, P. Syntenic relationships among legumes revealed using a gene-based genetic linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 121, p. 1103–1116, 2010.

MESSINA, V. Nutritional and health benefits of dried beans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 100, p. 437–442, 2014. doi: 10.3945/ajcn.113.071472.

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

MONTERO-TAVERA, V.; RUIZ-MEDRANO, R.; XOCONOSTLE-CÁZARES, B. Systemic nature of drought-tolerance in common bean. **Plant Signaling & Behavior**, Georgetown, v. 3, n. 9, p. 663-666, 2008.

MORAES, W. B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G. O.; CAETANO, S. P.; MORAES, W. B. Seleção de genótipos de feijoeiro à seca. **IDESIA**, Arica, Chile, v. 28, p. 53-59, 2010.

NASER, V.; SHANI, E. Auxin response under osmotic stress. **Plant Molecular Biology**, The Hague, v. 91, n. 6, p. 661-72, 2016. doi: 10.1007/s11103-016-0476-5.

PAPA, R.; GEPTS, P. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, p. 239–250, 2003.

PESQUISADORES do IAC desenvolvem feijão mais resistente à seca. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, 11 nov. 2014. Depoimento à Elton Alisson. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/pesquisadores_do_iac_desenvolvem_feijao_mais_resistente_a_seca/20207/> Acesso em: 02 mar. 2016.

PERSEGUINI, J. M. K. C.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; COLOMBO, C. A.; CARBONELL, S. A. M.; MONDEGO, J. M. C.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; DE CAMPOS, T.; DE SOUZA, A. P.; BENCHIMOL RUBIANO, L. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. **Genetics and Molecular Biology**, Riberão Preto, v. 34, n. 1, p. 88-102, 2011.

RAFALSKI, A. J. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 94–100, 2002a.

RAFALSKI, A. J. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. **Plant Science**, Amsterdam, v. 162, p. 329-333, 2002b.

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

RAO, I. M.; POLANIA, J.; GARCIA, R.; BEEBE, S. Development of a greenhouse soil tube method to quantify phenotypic differences among advanced lines in root development and distribution under drought stress. In: CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Project IP-1**: Bean improvement for the tropics Annual Report. Cali, Colombia: CIAT, 2006. p. 19-25.

RECCHIA, G. H.; KONZEN, E. R.; CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M. Expression profile of genes underlying drought tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi symbiosis. In: PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 21., 2013, San Diego. Paris: INRA. International Grape Genome Program, 2013a.

RECCHIA, G.; CALDAS, D.; BERALDO, A.; DA SILVA, M.; TSAI, S. Transcriptional Analysis of Drought-Induced Genes in the Roots of a Tolerant Genotype of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, p. 7155-7179, 2013b.

RECCHIA, G. H.; KONZEN, E. R.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Leads to Differential Regulation of Drought-Responsive Genes in Tissue-Specific Root Cells of Common Bean. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, p. 1339, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.01339.

ROYCHOUDHURY, A.; PAUL, S.; BASU, S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscísico acid-independent pathways during abiotic stress. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 32, p. 985–1006, 2013.

SCHMUTZ, J.; MCCLEAN, E. P.; MAMIDI, S.; WU, G. A.; CANNON, S. B.; GRIMWOOD, G.; JENKINS, J.; SHU, S.; SONG, Q.; CHAVARR, C.; TORRES-TORRES, M.; GEFFROY, V.; MOGHADDAM, S. M.; GA, D.; ABERNATHY, B.; BARRY, K.; BLAIR, M.; BRICK, M. A.; CHOVATIA, M.; GEPTS, P.; GOODSTEIN, D. M.; GONZALES, M.; HELLSTEN, U.; HYTEN, D. L.; JIA, G.; KELLY, J. D.; KUDRNA, D.; LEE, R.; RICHARD, M. M. S.; MIKLAS, P. N.; OSORNO, J. N.; RODRIGUES, J.; THAREAU, V.; URREA, C. A.; WANG, M.; YU, Y.; ZHANG, M.; WING, R. A.; CREGAN, B. B.; ROKHSAR, D. S.; JACKSON, S. A. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature Genetics**, New York, v. 46, n. 7, p. 707-7017, 2014.

SHAO, H.B.; CHU, L.Y.; JALEEL, C.A.; MANIVANNAN, P.; PANNEERSELVAM, R.; SHAO, M. A. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants-biotechnologically and sustainably improving agriculture and the ecoenvironment in arid regions of the globe. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 29, p. 131-151, 2009.

SINGH, S. P. Drought resistance in the race Durango dry bean landraces and cultivars. **Agronomy Journal**, Madiosn, v. 99, p. 1219–1225, 2007.

SINGH, S. P.; TERA´N, H.; GUTIERREZ, J.A. Registration of SEA5 and SEA13 drought tolerant dry bean germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 41, p. 276–277, 2001.

SINGH, S. P.; GUTIÉRREZ, 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**, Madison, v. 31, p. 23–29, 1991.

SPONCHIADO, B. N.; WHITE, J. W.; CASTILLO, J. A.; JONES, P. G. Root growth of four common bean cultivar sin relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 25, p. 249–257, 1989.

SOUZA, M. G.; DE TARSO, S. A.; GIAVENO, C. D.; DE OLIVEIRA, R. F. Drought stability in different yield reduction due to drought stress are attributed to common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) genotypes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 3, p. 203-208, 2003.

TSAI, S. M.; TEIXEIRA, M. A. Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em feijoeiro com estirpes nativas de rizóbio, em solo tratado com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, p. 1047-1050, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 30-55.

TERA´N, H.; SINGH, S. P. Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 64–70, 2002.

THOMPSON, S. V.; WINHAM, D. M.; HUTCHINS, A. M. Bean and rice meals reduce postprandial glycemic response in adults with type 2 diabetes: a cross-over study. **Nutrition Journal**, London, v. 11, art. 23, 2012.

TORO, O.; TOHME, J.; DEBOUCK, D. G. **Wild Bean** (*Phaseolus vulgaris* L): Description and distribution. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1990.

US DEPARTMENT OF ENERGY. Joint Genome Institute. **Phytozome**. Berkeley, 2017. Disponível em: https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html. Acesso em: 07 mar. 2016.

DO VALE, N. M.; BARILI, L. D.; ROZZETO, D. S.; STINGHIN, J. C.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; KÖOP, M. M. Avaliação para tolerância ao estresse hídrico em feijão. **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 135-144, 2012.

VERA, J. C.; WHEAT, C. W.; FESCEMYER, H. W.; FRILANDER, M. J.; CRAWFORD, D. L.; HANSKI, I.; MARDEN, J. H. Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 17, p. 1636-1647, 2008.

VIEIRA, R. F.; CARNEIRO, J. E. S.; LYNCH, J. P. Root traits of common bean genotypes used in breeding programs for disease resistance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 6, p. 707-712, 2008.

WEN, F.; ZHU, Y.; HAWES, M. C. Effect of pectin methylesterase gene expression on pea root development. **Plant Cell**, Rockville, v. 11, n. 6, p. 1129-40, 1999.

WESTPHAL, E. Pulses in Etiopia, their taxonomy and agricultural significance Phaseolus. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1974. (Agricultural Research Reports, 815). p. 129-176.

WHITE, J. W.; OCHOA, R. M.; IBARRA, F. P.; SINGH, S. P. Inheritance of seed yield, maturity and seed weight of common bean (Phaseolus vulgaris) under semi-arid rainfed conditions. **Journal of Agricultural Science**, London, v. 122, p. 265–273, 1994.

ZAKIR-PEREIRA, A. C. V.; TSAI, SM.; CALDAS, D. G. G. Isolation and Molecular Characterization of a New DREB Transcription Factor from *Phaseolus vulgaris* L. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE GENÉTICA MOLECULAR DE PLANTAS, 4., 2013, Bento Gonçalves, RS. Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Genética, 2013a.

ZAKIR-PEREIRA, A. C. V.; TSAI, S. M.; CALDAS, D.G.G. Transformação genética de mutantes de Arabidopsis thaliana com um novo fator de transcrição DREB identificado em *Phaseolus vulgaris* L. In: SIMPÓSIO CIENTÍFICO DE PÓS-GRADUANDOS NO CENA/USP, 6., 2013, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: CENA/USP, 2013b.

ZLATEV, Z.; STOYANOV, Z. Effects of water stress on leaf water relations of young bean plants. **Journal of the Central European Agriculture**, Zagreb, v. 6, p. 5-14, 2005.

3. ESTUDO 1: Análise da diversidade genética, caracterização fisiológica e morfológica de genótipos de feijão carioca sob déficit hídrico

Resumo

O feijão do tipo Carioca é amplamente cultivado e consumido em todo o território nacional, sendo o Brasil considerado o principal consumidor e o terceiro maior produtor mundial da cultura. Os primeiros estudos com feijão Carioca tiveram início na década de 60 e atualmente mais de 80 genótipos foram obtidos através de melhoramento genético convencional. Com o objetivo de acessar a diversidade genética presente em 26 genótipos de feijão Carioca provenientes de diferentes cruzamentos, foi realizado o sequenciamento para genotipagem e como resultado foram identificados 2.251 SNPs. Apesar da alta diversidade genética encontrada, na análise da estrutura genética da população não houve separação de grupos. O déficit hídrico é um dos principais fatores que afetam a produtividade e o rendimento do feijoeiro, entender os mecanismos fisiológicos e morfológicos de adaptação foi essencial para discriminação entre genótipos tolerantes e susceptíveis. Dos 26 genótipos de feijão Carioca usados para a análise da diversidade genética, 13 foram selecionados para serem submetidos ao déficit hídrico severo a capacidade de campo de 30%. Como resultado foi observada uma redução na massa seca de parte aérea para os genótipos Aporé, BRS-talismã, Carioquinha, IAC Alvorada, IAC Tybatã, IAPAR 57, IPR Campos e Pérola. Os genótipos Carioquinha, IAC Alvorada, IAC Carioca 80SH e IAPAR 57 apresentaram menor sensibilidade ao déficit hídrico com a manutenção da massa seca radicular e aumento significativo no crescimento das raízes. Os genótipos IAC Carioca 80SH e IPR Juriti foram considerados tolerantes ao déficit hídrico por apresentarem manutenção/aumento da biomassa da planta sob o estresse, bem como, aumento no crescimento de raízes. Através da análise de coordenadas principais, 80.8% da variação encontrada em relação aos parâmetros fisiológicos foi explicada principalmente pela eficiência do uso da água (55.4%) e pela condutância estomática (25.4%). Em relação aos parâmetros morfológicos 79,2% da variação pode ser explicada, sendo que, 53,9 % foi atribuída a Densidade e comprimento de raízes e 25.5% a massa seca de raízes.

Palavras-chave: Feijão Carioca, Déficit hídrico, SNPs, Fisiologia do estresse, Morfologia radicular.

3.1. Introdução

Para conhecer a diversidade genética presente em genótipos de feijão comum, e acessar informações que podem ser usadas em programas de melhoramento para obter genótipos com maior rendimento e adaptados a estresses bióticos e abióticos, estudos usando marcadores moleculares têm sido descritos na literatura (GUPTA, et al., 2008; CORTÊS; CHAVARRO; BLAIR, 2011; PERSEGUINI et al., 2011; BURT et al., 2015; CICHY et al., 2015; KELLER et al., 2015; DIAZ et al., 2018). Polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) são marcadores ideais para mapeamento genético e acesso a diversidade devido a abundância e ampla distribuição no genoma (CHAGNE´ et al., 2007). Um exemplo do quão informativo pode ser o uso de SNPs para a genotipagem em feijão comum, em 188 genótipos avaliados 6.286 SNPs foram encontrados, sendo que 43.3% foram encontrados em regiões gênicas e 56.7% em regiões não gênicas (VALDISSER et al., 2017). A detecção de SNPs em genes relacionados a tolerância ao déficit hídrico em feijão comum, tem fornecido informações que podem ser usadas para a seleção de genótipos tolerantes (CORTÉS et al., 2012; BLAIR; CORTÉS, 2016; KONZEN et al., 2019). O uso de marcadores SNPs para acessar a diversidade genética em genótipos de feijão Carioca poderá fornecer informações a respeito da estrutura genética da população.

Entre os estresses abióticos, a seca é a que apresenta maior impacto no crescimento e produtividade de feijoeiro (RAO et al., 2014). O déficit hídrico afeta a produção de biomassa total e rendimento de sementes, a translocação de produtos da fotossíntese e a divisão de número de vagens e sementes por planta, e o comprimento e massa seca de raízes (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998; BEEBE et al., 2013). Durante a fase de florescimento e pós-florescimento a seca pode levar a redução de 60-99% no rendimento (MANJERU et al., 2007; AMBACHEW et al., 2015). O dano causado, depende da frequência, duração e intensidade do estresse, bem como, da fase de desenvolvimento da planta (ARRUDA et al., 2018).

A tolerância ao déficit hídrico em feijão é complexa e envolve mecanismos de regulação multigênica, que é dependente do ambiente e de características morfo-fisiológicas da planta (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998). Identificar características associadas a tolerância a seca, que contribuem para obtenção de genótipos com maior adaptação se torna essencial para garantir a produtividade mesmo em condições de estresse. Algumas características como antecipação da fase reprodutiva, crescimento das raízes em profundidade e melhor partição de matéria seca para a produção de grãos foram observadas em genótipos tolerantes de feijão

(HALL, 2004; BEEBE et al., 2013; RAO et al., 2013; RAO, 2014). Além dessas caraterísticas, outras ligadas ao estado fisiológico das plantas sob estresse como eficiência fotossintética, taxa de transpiração, potencial hídrico e temperatura foliar, conteúdo de clorofila e condutância estomática também foram relacionadas a genótipos tolerantes (BEEBE et al., 2013).

Diante do exposto, tivemos como objetivo a genotipagem por SNPs em 26 variedades de feijão Carioca para compreender um pouco mais a respeito da estrutura da população e diversidade genética, e também, realizar um "screening" inicial para identificar os genótipos de feijão Carioca com maior tolerância ao déficit hídrico através de análises morfo-fisiológicas.

3.2. Materiais e Métodos

3.2.1 Sequenciamento via BARCBean6K_3 Beadchip para a detecção de SNPs

Vinte e seis genótipos de feijão Carioca (*P. vulgaris* L.) de uso comercial provenientes de diferentes cruzamentos (PERSEGUINI et al., 2011), foram selecionados para o sequenciamento. As amostras de DNA foram extraídas de acordo com o protocolo descrito por Chomczynski et al. (2018). O sequenciamento foi realizado através da plataforma BARCBean6K_3 Beadchip que é uma matriz com 5,398 SNPs desenvolvida para estudos com feijão comum (SONG et al., 2015). As amostras foram genotipadas na ESALQ, na e Ecomol que é uma startup especializada em sequenciamento de nova geração. A análise dos alelos, clusterização e análise multivariada dos dados do sequenciamento foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Konzen et al. (2019).

3.2.2 Material vegetal e condições de déficit hídrico do experimento

3.2.2.1 Análise inicial do perfil de tolerância ao déficit hídrico

Para determinar o perfil de tolerância ao déficit hídrico nos diferentes tipos de feijão Carioca (*P. vulgaris* L.), foram selecionados treze genótipos de uso comercial provenientes de diferentes cruzamentos (Tabela 1) que foram usados em um ensaio de déficit hídrico em maio de 2015 para um *screening* inicial. O genótipo Pinto Saltillo da raça Durango, que pertence ao pool gênico mesoamericano com perfil tolerante e os genótipos BAT477 e SEA5 com histórico de melhoramento para a tolerância ao déficit hídrico foram utilizados no experimento como

referência (ACOSTA-GALLEGOS; WHITE, 1995; SINGH; TERA´N; GUTIERREZ, 2001).

Duas sementes de cada cultivar foram germinadas em tubos de PVC 90 cm x 10 cm de acordo com o método desenvolvido no CIAT (RAO et al., 2006; POLANÍA et al., 2009). Após cinco dias apenas uma planta foi mantida por tubo. Os tubos foram preenchidos com uma camada de 2 cm de brita e substrato constituído de areia e vermiculita (2:1), lavada e esterilizada em autoclave por 20 minutos a 1 atm. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Laboratório de Biologia celular e molecular do CENA/USP, Piracicaba, SP, Brasil no período entre 10/03/2016 e 27/04/2016, as plantas cresceram sob radiação solar natural com oscilação de temperatura de 20°C a 31°C ao longo do dia.

Os experimentos foram constituídos de três blocos casualizados, com três repetições e dois tratamentos: (i) controle – condições normais de irrigação, capacidade de campo (Cc) de 80% (sem aplicação de estresse); (ii) déficit hídrico – suspensão da irrigação no estádio fenológico V3 (vegetativo) até que a Cc atingisse aproximadamente 30%, considerado déficit hídrico severo (ROSALES et al., 2012). A escolha do estádio fenológico V3 e do período de aplicação do estresse foi determinado com base em estudos prévios realizados em nosso laboratório (BORGES et al., 2012; KONZEN et al., 2019).

Foram feitas duas aplicações com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), uma aplicação sete dias após a germinação e a outra aplicação sete dias após a primeira. Uma solução NPK (4-14-8) foi adicionada nas plantas 6 dias após a última aplicação da solução de Hoagland. Durante o ensaio do déficit hídrico, uma interrupção gradual da irrigação foi conduzida com o intuito de se aproximar das condições encontradas em campo. Passados 21 dias do início do experimento, os tubos foram irrigados até a completa saturação e após o escoamento o peso foi medido, logo em seguida, foi feito o corte da irrigação nas plantas que seriam submetidas ao déficit hídrico, bem como, o monitoramento para manter a Cc a 30% por 15 dias. Após quatro dias do corte da irrigação aproximadamente 20 mL de água foi adicionada a superfície dos vasos, seguidos por mais 40 mL decorridos seis, nove, doze e quinze dias.

Tabela 1. Genealogia dos treze genótipos de feijão Carioca (*P. vulgaris* L.) usados neste estudo

Genótipos	Genealogia	Origem
Aporé	Carioca / México 168 /4/ Carioca /// Porrillo No. 1 / Gentry 21439 // 51052 / Cornell 49-242	Embrapa
BRS-Horizonte	EMP 250 / 4 / A 769 /// A 429 / XAN 252 // Pinto VI 114	Embrapa
BRSMG-Talismã	Selection involving the following parents: BAT 477, IAPAR 14, FT 84-29, Jalo EEP, A 252, A 77, Ojo de Liebre, ESAL 645, Pintado, Carioca, ESAL 645, P 85, P 103, H-4, AN910522, ESAL 624, Carioca MG	Embrapa
Carioca	Seleção pelo agricultor (Palmital, SP, Brasil)	IAC
IAC Alvorada	Pyatã / A686 // Maravilha / G2338 // Maravilha / And277 // L317-1	IAC
IAC Carioca 80 SH	Carioca / Cornell 49-242	IAC
IAC Carioca Imperador	Não encontrada	IAC
IAC Carioca Tybatã	L933 / LM30630	IAC
IAPAR 57	Porrillo Sintético / Aeté 1-38 // CENA 83-1 / IAPAR BAC32 // CENA 83-2 / CENA 83-1	IAPAR
IAPAR 81	Veranic 2 / Tlalnepantla 64 // Jamapa / Tara /// [(Carioca 99 / G.N.Nebraska 1#Sel 27) // Sel.Aroana]} /5/ Aroana /// Veranic 2 / Tlalnepantla 64 // Jamapa / Tara /4/ A 259	IAPAR
IPR Juriti	BAT93 / 2 / Carioca Sel.99 / Great Northern Nebraska 1 sel#27 / 3 / sel. Aroana / 4 / A176 / A259 / 5 / II 133 / XAN87	IAPAR
IPR Campos Gerais	Não encontrada	IAPAR
Pérola	Carioca / México 168 / 4 / Carioca /// Porrillo No. 1 / Gentry 21439 // 51052 / Cornell 49-242	EMBRAPA

3.2.3 Parâmetros fisiológicos avaliados nas plantas sob o estresse

3.2.3.1 Conteúdo relativo de água

Para determinar o conteúdo relativo de água (RWC – *Relative Water Content*) foi destacado um folíolo completamente expandido na altura entre o terceiro e quarto nó de cada planta. Os folíolos foram coletados das 8 ás 10 da manhã para evitar perdas por evapotranspiração, após a coleta o peso fresco (Pf) foi medido. Logo em seguida, as folhas foram submersas em água deionizada por 5 horas e pesadas exatamente na ordem de coleta para obter o peso turgido (Pt). Logo depois, as folhas foram para a estufa a 60°C até atingirem peso constante, o peso seco foi medido para a obtenção da massa seca (Ps). O RWC foi calculado de acordo com Barr e Weatherley (1962).

3.2.3.2 Trocas gasosas e taxa fotossintética

Plantas submetidas ao déficit hídrico e o controle foram analisadas quanto à taxa de assimilação fotossintética (An), a condutância estomática (gs), a concentração intracelular de CO_2 (Ci), a taxa de transpiração (E) e o déficit de pressão de vapor na superfície foliar (Vpdl) usando o equipamento IRGA, modelo LI-6400XT quinze dias após as plantas atingiram 30% da Cc. As leituras foram realizadas entre as 11 h da manhã e 12:30 da tarde, a concentração atmosférica de CO_2 (Ca) foi de ~390 umol mol^{-1}, a temperatura dentro da casa de vegetação estava em torno de 45°C e a temperatura foliar variou ente 32°C e 36°C, umidade ambiente, radiação fotossintetizante ativa (PAR) constante (1000 µmols fótons m^{-2} s^{-1}).

3.2.3.3 Massa seca de parte aérea e raízes

Para a determinação da massa seca da parte aérea e raízes as partes das plantas coletadas foram separadas e o peso fresco (Pf) foi medido, logo em seguida, colocou-se em sacos de papel e foram mantidas em estufa ventilada a 60°C até atingirem peso constante para em seguida medir o peso seco (Ps). O cálculo para a determinação da massa seca foi: (%) Massa seca = (Ps/Pf)100.

3.2.3.4 Comprimento radicular

Para o cálculo do comprimento radicular, raízes recém-coletadas foram colocadas sobre papel quadriculado com 1 cm^2 e fotografadas. Utilizando o software *ImageJ* versão 1.49r (HTTP://imagej.nih.gov/ij) foi determinado o comprimento de cada raiz.

3.2.3.5 Eficiência no uso da água e Eficiência da Carboxilação

A eficiência no uso da água foi calculada como a razão entre a taxa fotossintética (An) e a taxa de transpiração (E) (An/E) (MACHADO et al., 2005). A eficiência da carboxilação foi calculada como a razão entre a taxa fotossintética (An) e a concentração interna de CO_2(Ci) (An/Ci) (MELO et al., 2009).

3.2.4 Análises estatísticas

Todos os dados foram analisados utilizando o programa *JMP – Statistical Discovery™ From SAS* versão 10.0.1. As análises *oneway* ANOVA foram feitas para contrastar os diferentes parâmetros em relação a diferenças referentes aos blocos, tratamentos, genótipos e a interação tratamento/genótipo. Médias com valores diferentes entre os tratamentos e/ou genótipos com F>0,05, foram submetidas à análise para comparação de médias usando o teste Tukey-Kramer HSD (q=1,9855 α=0,05). O cálculo da porcentagem que reflete a diferença entre déficit hídrico e o controle foi determinado e o teste de Tukey ($p \leq 0.05$) aplicado para constatar se as diferenças de fato foram significativas.

A análise de coordenadas principais (PCA) foi realizada no software R versão 3.2.0 usando os pacotes, devtools, dplyr e ggbiplot. As medianas das variáveis foram calculadas e usadas para criar a matriz de correlação da PCA. Os componentes com maior variância foram utilizados para a criação do biplot, onde foi possível observar a importância de cada componente, bem como a representatividade do mesmo.

3.3. Resultados e Discussão

Para um *screening* inicial e obtenção de informações sobre a diversidade genética, foram selecionados 26 genótipos de feijão Carioca para este estudo, uma matriz que compreende 5,398 SNPs identificados em feijão comum foi usada para o sequenciamento dos genótipos. Os SNPs que foram encontrados em heterozigose nos alelos foram removidos da análise. Em espécies autógamas como feijão que realizam a autofecundação a taxa de recombinação é baixa em torno de 5% (RAMALHO; ABREU, 2011). No total 2.251 marcadores SNPs foram identificados e usados para determinar a distância genética entre os genótipos e a estrutura genética da pequena população em estudo.

Em relação à distância genética, os genótipos de feijão Carioca foram agrupados em um único cluster (Figura 1). Os genótipos referência para tolerância ao déficit hídrico Pinto Saltillo e SEA5 ficaram em um grupo separado em relação aos demais. Para o genótipo Carioca Original ou Carioca comum (obtido por seleção natural em campo), foi observada a formação de um cluster com os genótipos IAC Carioca 80SH, IPR campos, Caneludo e IAC Imperador o que sugere que eles são mais próximos geneticamente (Figura 1).

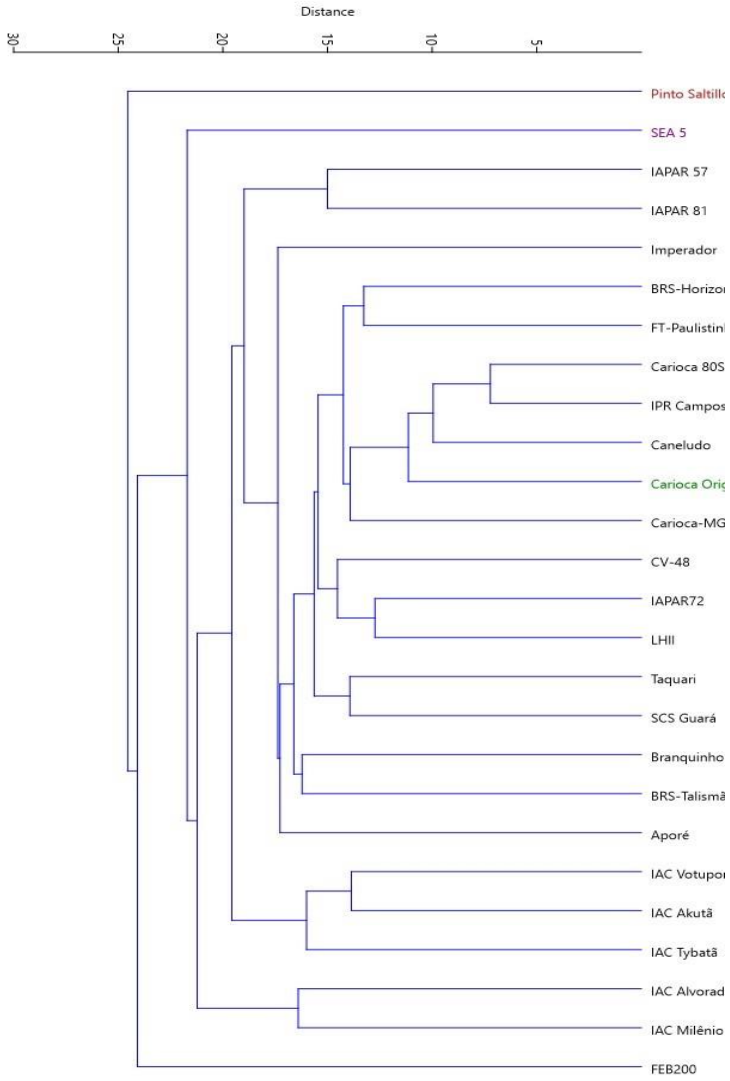


Figura 1. Genotipagem de feijão Carioca por SNPs usando a plataforma BARCBean6K_3 Beadchip. Árvore filogenética com a distância entre os genótipos de Carioca analisados.

Na análise da estrutura genética dos 26 genótipos usados neste *screening* inicial, 2.251 SNPs foram identificados e uma subdivisão com dois grupos distintos foi observada (Figura 2). Marcadores genéticos SNPs são muito informativos e por serem encontrados em ampla distribuição no genoma e apresentarem custo relativamente baixo, vários trabalhos revelam que esta abordagem vem sendo utilizada para a genotipagem e análise de diversidade genética em feijão comum (GAITAN et al., 2008; GALEANO et al., 2009; McCONNELL et al., 2010; CORTÉS; CHAVARRO; BLAIR, 2011; SONG et al., 2015; KONZEN et al., 2019). Através da análise da estrutura genética populacional de genótipos feijão Carioca, foi possível obsersar que os genótipos são geneticamente divergentes e que existe variabilidade dentro do grupo Carioca (Figura 2).

O genótipo Carioca Original (24) que foi selecionado a partir de uma mutação natural em campo ficou próximo a genótipos mais antigos obtidos através do melhoramento genético convencional (IPR Campos, IAC Carioca 80 SH, Pérola, LHII). Em genótipos mais recentes, o efeito do melhoramento para a introdução de características de interesse tem sido o responsável pelo aumento da diversidade genética observada nos genótipos de feijão Carioca (Figura 2).

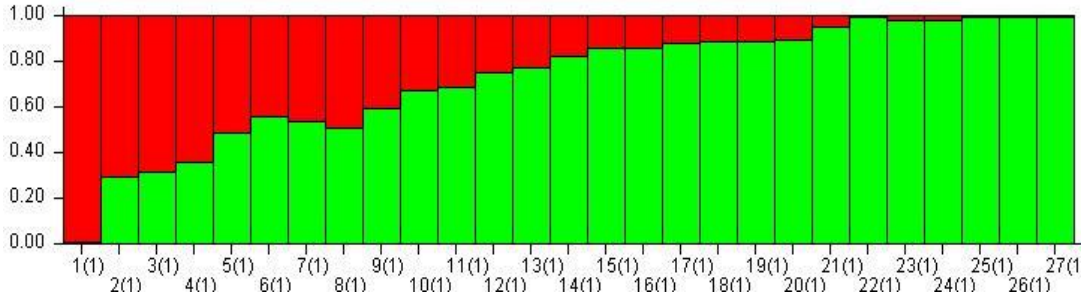


Figura 2. Análise da estrutura genética dos vinte e seis genótipos de feijão Carioca usados no estudo. Legenda: (1) Pinto Saltillo, (2) SEA 5, (3) FEB200, (4) IAC Akutã, (5) IAC Milênio, (6) IAC Tybatã, (7) IAC Votuporanga, (8) IAPAR 57, (9) IAPAR 81, (10) BRS-Talismã, (11) IAC Alvorada, (12) IAC Imperador, (13) Aporé, (14) Branquinho, (15) SCS Guará, (16) CV-48, (17) BRS-Horizonte, (18) IAPAR72, (19) Taquari, (20) Carioca-MG, (21) FT-Paulistinha, (22) IPR Campos, (24) Carioca Original, (25), IAC Carioca 80SH (26) Pérola, (27) LHII.

O déficit hídrico pode ser definido como a disponibilidade de água inadequada para a planta e pode atingir apenas uma fase do desenvolvimento ou se estender durante todo o seu ciclo de vida, sendo o principal fator responsável pela redução no crescimento vegetativo e no rendimento do feijão comum (BRAY, 1997; ROSALES et al., 2012). Mudanças climáticas a nível global têm favorecido condições de déficit hídrico severo e diante deste cenário, identificar a variação entre os genótipos em relação aos mecanismos de adaptação à seca utilizando uma abordagem de caracterização genotípica e fenotípica se torna essencial para a seleção de genótipos tolerantes (DAI, 2012; BASU et al., 2016).

Neste estudo dos vinte e seis genótipos de feijão Carioca (*P. vulgaris*) sequenciados, treze foram submetidos ao déficit hídrico (Cc de 30%) em condições controladas para selecionar os que são contrastantes para a tolerância na fase inicial do desenvolvimento (estádio vegetativo V3), usando como referência para tolerância os genótipos Pinto Saltillo (ACOSTA-GALLEGOS; WHITE, 1995; BEEBE et al., 2008), BAT477 e SEA 5 (SINGH; TERA´N; GUTIERREZ, 2001; ACOSTA-DÍAZ, 2009). Nas fases iniciais do desenvolvimento do feijão comum, o déficit hídrico leva a uma série de modificações na planta que precisa se adaptar para manter o crescimento e a sobrevivência. Estudos revelaram que quando o déficit hídrico ocorre no estádio vegetativo, parâmetros relacionados ao crescimento são afetados levando a redução

no número de trifólios e de nós, redução no comprimento da planta e no rendimento com perdas de até 70% dependendo do genótipo, além disso, um grande impacto sobre o número de vagens e de sementes por planta foi observado (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998; NIELSEN; NELSON, 1998; BOUTRAA; SANDERS, 2006).

Para avaliar os efeitos do déficit hídrico na fase inicial do desenvolvimento de genótipos de feijão Carioca, parâmetros fisiológicos como a taxa fotossintética (A_n), a taxa de transpiração (E), a condutância estomática (g_s) e a concentração interna de CO_2 foram quantificados. Foi observada a redução 35% na taxa fotossintética em plantas submetidas ao déficit hídrico (10,4 μmol CO2 m^{-2} s^{-1}) em relação ao controle (16 μmol CO2 m^{-2} s^{-1}) (Tabela 1). A fotossíntese é um dos primeiros processos que são afetados nas plantas sob o déficit hídrico e os efeitos podem ser diretos como a diminuição na disponibilidade de CO_2 causada pelo fechamento dos estômatos, limitando assim, a sua difusão nas células do mesófilo; ou indiretos devido a alterações no metabolismo fotossintético levando à redução na taxa fotossintética foliar (BERKOWITZ; GIBBS, 1983; CHAVES, 1991; LAWLOR; CORNIC, 2002; FLEXAS et al., 2004). Além da diminuição na captação de CO_2 para a fotossíntese, o fechamento parcial ou total dos estômatos está associado à redução na taxa de transpiração (ROSALES et al., 2012). Neste experimento, os genótipos de feijão Carioca sob o déficit hídrico apresentaram redução de 32% na taxa de transpiração (4,4 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) quando comparados com as plantas controle (6,5 mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) (Tabela 1). O genótipo IPR campos foi o que apresentou a maior redução na taxa fotossintética (68%) e na taxa de transpiração (70%) sob o déficit hídrico.

Plantas podem adotar um comportamento de proteção contra o déficit hídrico mantendo o conteúdo de água nos tecidos relativamente alto, entre os mecanismos de adaptação para a proteção está o fechamento estomático que por um lado evita a perda de água por evapotranspiração, mas por outro, reduz a absorção de CO_2 (TAIZ; ZEIGER, 2004; BASU et al., 2016). Os genótipos de feijão Carioca apresentaram uma redução de 54% na condutância estomática nas plantas sob o déficit hídrico (0,12 mol H_2O m^{-2} s^{-1}) em relação às plantas controle (0,26 mol H_2O m^{-2} s^{-1}) (Tabela 1). Apesar da redução na taxa fotossintética, na taxa de transpiração e na condutância estomática ter sido observada em genótipos de feijão Carioca submetidos às condições de déficit hídrico, não houve diferenças significativas em relação à concentração interna de CO_2 entre plantas controle e sob o estresse (dados não mostrados).

Tabela 1. Parâmetros fisiológicos quantificados em genótipos de feijão carioca e genótipos tolerantes submetidos ao déficit hídrico à capacidade de campo (Cc) de 30%

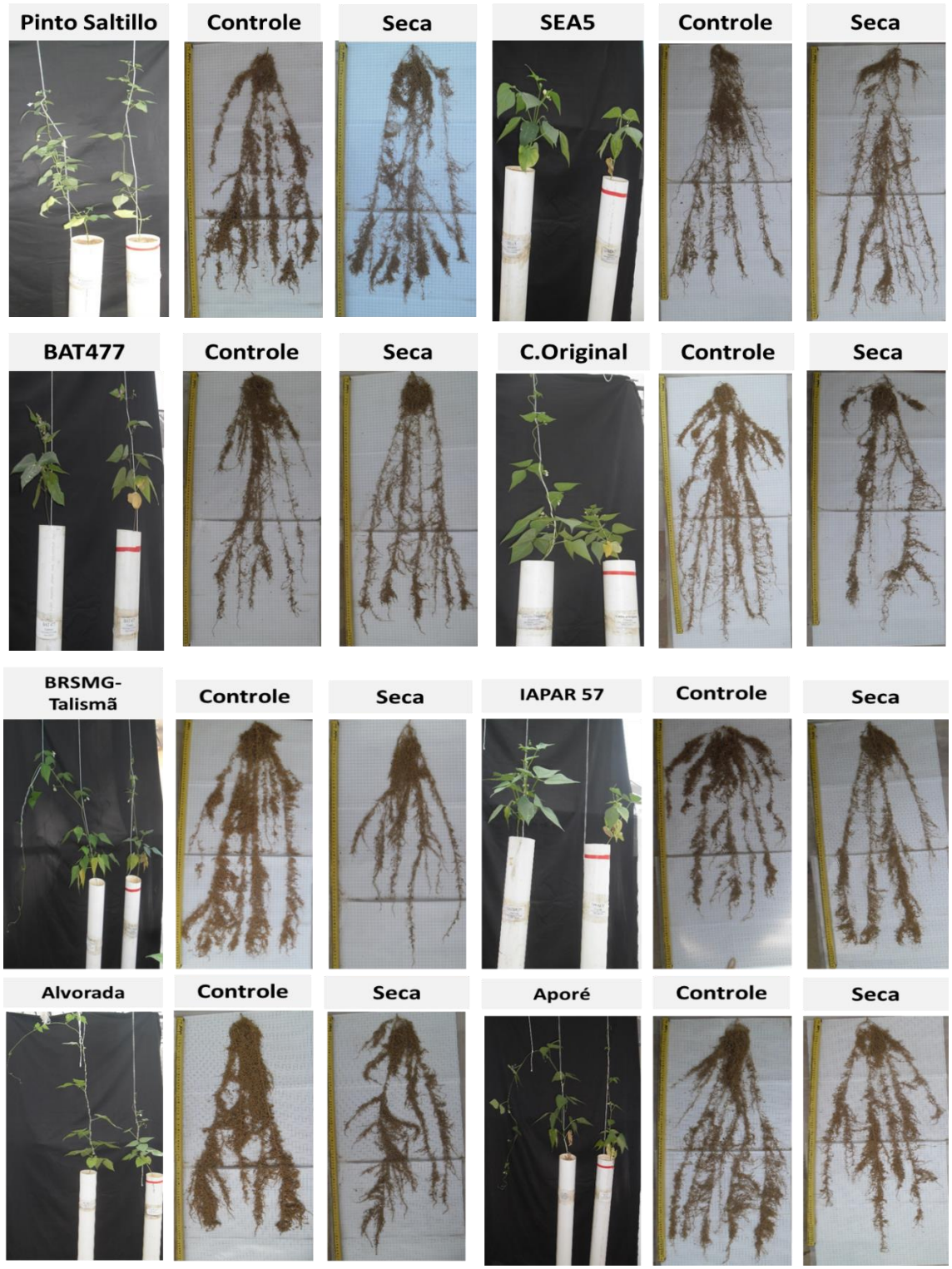
	An (μmol CO2 m^{-2} s^{-1})		E (mmol H_2O m^{-2} s^{-1})		g_s (mol H_2O m^{-2} s^{-1})	
	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%
BAT477	18,9 a	4,2 b	7,9 a	2,3 b	0,41 a	0,02 b
P. Saltillo	16,8 a	8,6 b	6,5 a	4,5 b	0,20 a	0,14 b
SEA5	16,7 a	11,6 b	6,8 a	5,7 b	0,30 a	0,20 b
Aporé	15,2 a	10,3 b	6,0 a	4,5 b	0,19 a	0,14 b
BRS-Horizonte	18,6 a	13,3 b	9,2 a	4,7 b	0,27 a	0,03 b
BRS-Talismã	17,3 a	10,0 b	7,0 a	3,6 b	0,31 a	0,13 b
Carioquinha	15,5 a	8,3 b	7,0 a	3,0 b	0,28 a	0,08 b
IAC alvorada	13,7 a	9,8 b	5,8 a	3,0 b	0,19 a	0,08 b
IAC Cari. 80SH	15,9 a	13,7 b	6,3 a	4,4 b	0,28 a	0,08 b
IAC imperador	15,6 a	11,2 b	5,3 a	4,9 b	0,23 a	0,15 b
IAC tybatã	19,6 a	14,6 b	9,8 a	5,0 b	0,46 a	0,23 b
IAPAR 57	17,9 a	12,3 b	7,8 a	4,5 b	0,34 a	0,13 b
IAPAR 81	19,4 a	11,5 b	9,7 a	4,7 b	0,44 a	0,17 b
IPR campos	18,2 a	5,9 b (-68%)*	6,4 a	2,0 b (-70%)*	0,27 a	0,05 b
IPR juriti	17,6 a	13,2 b	4,5 a	3,0 b	0,19 a	0,01 b
Pérola	16,4 a	9,3 b	7,3 a	3,1 b	0,18 a	0,04 b
Média	16 a	10,4 b (-35%)*	6,5 a	4,4 b (-32%)*	0,26 a	0,12 b (-54%)*

Amostragem foi feita em plantas com 15 dias sob déficit hídrico. A_n (taxa fotossintética), E (taxa de transpiração), g_s (condutância estomática) e VpdL (Déficit de pressão de vapor líquido).

[a, b] valores com a mesma letra para cada coluna não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey-Kramer HSD (q*=1,9855 α=0,05), em nível de 5% de significância.

* dados entre parênteses representam a diferença na porcentagem entre déficit hídrico e o controle, indicando diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0.05$) entre os genótipos.

O déficit hídrico pode causar redução no crescimento em genótipos de feijão comum, isso reflete no acúmulo e no rendimento de biomassa da planta sob o estresse (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998; FRANÇA, 2000; BOUTRAA; SANDERS, 2001; LIZANA et al., 2006). Com o objetivo de avaliar os efeitos do déficit hídrico no acúmulo de biomassa em genótipos de feijão Carioca sob o déficit hídrico, parâmetros relacionados ao crescimento como a massa seca de parte aérea (MSPA), a massa seca de raízes (MSR) e o comprimento radicular foram determinados (Figura 3). Diferenças significativas entre controle e tratamento (médias 33,6 g e 27,7 g, respectivamente), bem como, diferenças entre os genótipos para MSPA foram observadas (Tabela 2). Houve redução significativa na MSPA para os genótipos BRS-Talismã (43%), IAPAR 57 (38%), IAC Alvorada (32%), Aporé e IAC Tybatã (30%), Pérola (23%), Carioquinha (17%) e IPR Campos (1%). Os genótipos BRS-Horizonte, IAC Carioca 80SH, IAC Imperador, IAPAR 81 e o IPR Juriti não apresentaram diferenças significativas para MSPA entre controle e tratamento, nesses genótipos o acúmulo de biomassa da planta sob o estresse foi mantido (Tabela 2). França et al. (2000), avaliaram o efeito do déficit hídrico em quatro genótipos de feijão comum e foi constatado que o genótipo ‘Carioca’ apresentou a melhor performance de crescimento sob estresse, devido a menor redução de MSPA. Os genótipos tolerantes BAT477, Pinto Saltillo e SEA5 não apresentaram redução significativa na MSPA sob déficit hídrico (Tabela 2). Rosales et al. (2012), compararam a taxa de crescimento relativo do genótipo Pinto Saltillo com um genótipo considerado suscetível ao déficit hídrico e observaram que sob condição de déficit hídrico severo o Pinto Saltillo apresentou menor redução na MSPA.


Pinto Saltillo
Controle
Seca
SEA5
Controle
Seca
BAT477
Controle
Seca
C.Original
Controle
Seca
BRSMG-Talismã
Controle
Seca
IAPAR 57
Controle
Seca
Alvorada
Controle
Seca
Aporé
Controle
Seca

Continua....

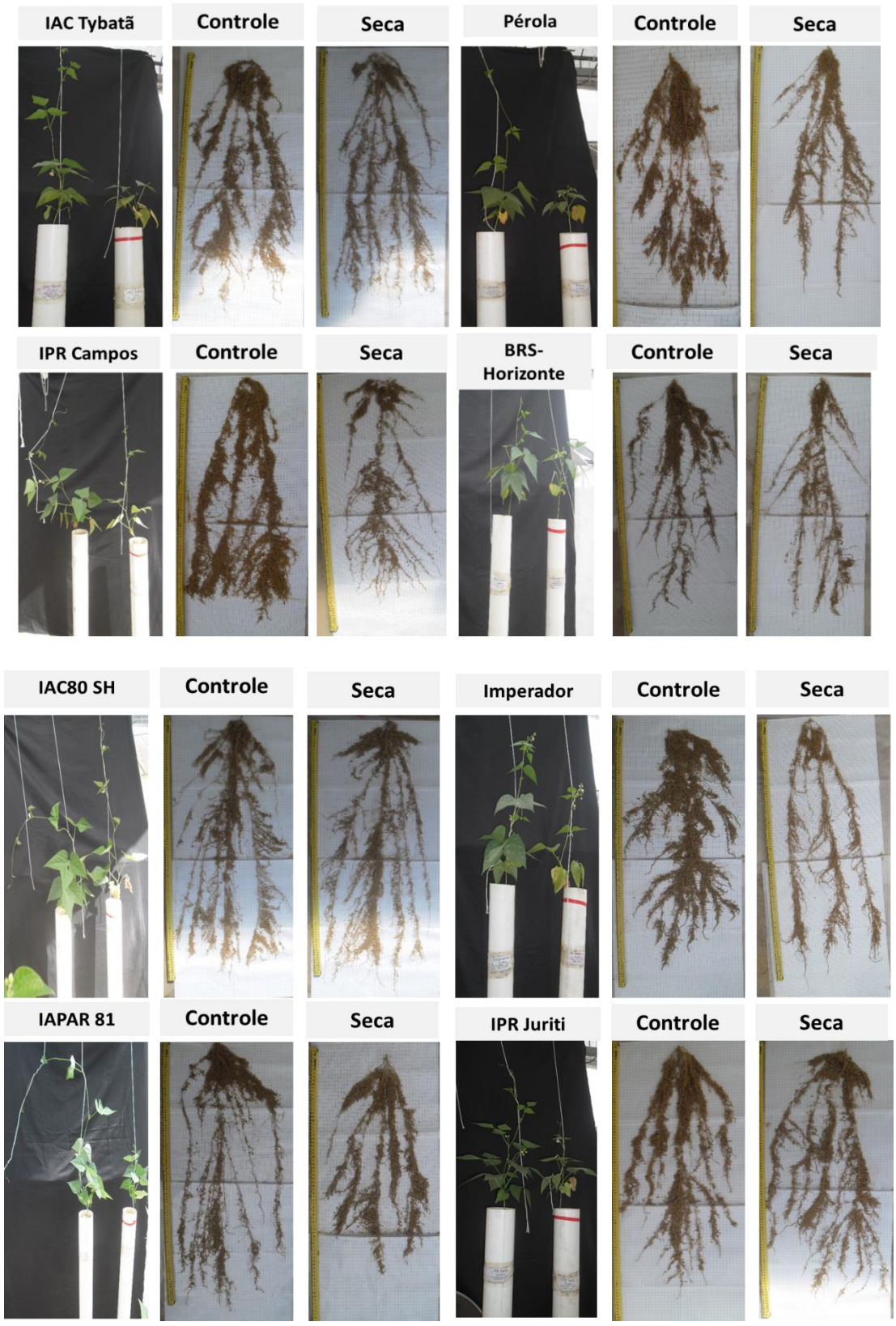


Figura 3. Efeito do déficit hídrico no acúmulo de biomassa em genótipos de feijão Carioca sob estresse. Cálculo da MSPA, MSR e comprimento radicular em genótipos sob controle (80% de Cc) e Déficit hídrico (30% de Cc)

Tabela 2. Parâmetros relacionados ao crescimento e rendimento de biomassa quantificada em genótipos de feijão Carioca e genótipos tolerantes submetidos ao déficit hídrico à capacidade de campo (Cc) de 30%

	MSPA (g)		MSR (g)		Comprimento radicular (cm)	
	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%
BAT477	27,6 a	26,9 a	74,5 b	90,1 a (+21%)*	94,4 b	149,3 a (+58%)*
P. Saltillo	34,3 a	33,1 a	75,2 b	83,6 a (+11%)*	75,3 b	138,4 a (+84%)*
SEA5	28,8 a	32,7 a	65,1 b	75,8 a (+15%)*	165,7 a	144,5 a
Aporé	38,2 a	26,8 b (-30%)*	80,4 a	76,1 a	134,3 a	113,8 b (-15%)*
BRS-Horizonte	34,1 a	29,9 a	78,0 a	73,4 b (-6%)*	92,4 b	121,8 a (+32%)*
BRS-Talismã	40,8 a	18,8 b (-43%)*	87,2 a	80,5 b (-8%)*	157,5 a	195,9 a
Carioquinha	24,5 a	20,4 b (-17%)*	80,3 a	77,4 a	128,7 b	175,2 a (+36%)*
IAC alvorada	31,0 a	20,8 b (-32%)*	84,0 a	84,3 a	72,1 b	138,8 a (+92%)*
IAC Cari. 80SH	36,2 a	28,2 a	80,1 a	83,5 a	136,3 b	172,3 a (+26%)*
IAC imperador	30,1 a	29,9 a	80,2 a	75,0 b (-7%)*	201,1 b	267,9 a (+33%)*
IAC tybatã	34,8 a	26,6 b (-30%)*	81,4 a	85,7 a	229,9 a	185,0 a
IAPAR 57	46,8 a	29,2 b (-38%)*	72,8 a	79,2 a	98,4 b	118,9 a (+21%)*
IAPAR 81	32,5 a	31,9 a	74,1 a	81,6 a	209,7 a	111,9 b (-53%)*
IPR campos	31,4 a	28,3 b (-1%)*	86,4 a	83,1 a	274,3 a	210,6 b (-24%)*
IPR juriti	24,0 a	26,4 a	81,9 a	82,8 a	91,8 b	117,2 a (+28%)*
Pérola	41,9 a	32,2 b (-23%)*	77,2 a	65,1 b (-15%)*	67,9 b	137,2 a (+102%)*
Média	33,6 a	27,7 b	74,6 a	79,8 a	139,3 b	156,1 a

Amostragem foi feita em plantas com 15 dias sob o déficit hídrico. MSPA (Massa Seca de Parte Aérea), MSR (Massa Seca de Raiz).

[a, b] valores com a mesma letra para cada coluna não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey-Kramer HSD (q^*=1,9855 α=0,05), em nível de 5% de significância.

* dados entre parênteses representam a diferença na porcentagem entre déficit hídrico e o controle, indicando diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0.05$) entre os genótipos.

Em relação à MSR, houve redução significativa nos genótipos Pérola (15%), BRS-talismã (8%), IAC Imperador (7%) e BRS-Horizonte (6%). O contrário foi observado para os genótipos tolerantes BAT477, Pinto Saltillo e SEA5 com aumento significativo de 21%, 11% e 15%, respectivamente (Tabela 2). Na análise para determinar o efeito do déficit hídrico em uma cultivar de feijão comum tolerante ao déficit hídrico, EMGOPA-201, foi observado um aumento na MSR em plantas submetidas ao déficit hídrico com Cc de 30% por um período de 10 dias (RAMOS et al., 1999). Não foram observadas diferenças significativas entre plantas controle e submetidas ao déficit hídrico em relação à MSR para os genótipos Apóré, Carioquinha, IAC Alvorada, IAC carioca 80SH, IAC Tybatã, IAPAR 57, IAPAR 81, IPR Campos e IPR Juriti (Tabela 2). Um resultado semelhante foi observado para o feijão comum sob déficit hídrico a Cc de 40% (AMEDE; SCHUBERT, 2003).

Além do fechamento estomático, outro mecanismo de proteção contra o déficit hídrico observado em plantas é o aumento do crescimento de raízes em profundidade que melhora a capacidade de captação de água do solo, e desse modo, auxilia na manutenção do status hídrico na planta (BEEBE et al., 2013). Nossos resultados demonstram que o comprimento radicular variou de forma significativa entre os genótipos de feijão Carioca, destacando-se o IPR Campos (274,3 cm) na condição controle e o genótipo IAC Imperador (267,9 cm) sob déficit hídrico, que apresentaram os maiores valores de comprimento de raízes. Em contraste, os menores valores de comprimento de raízes foram observados para os genótipos IPR Juriti (91,8 cm) e Pérola (65,1 cm), ambos na condição controle (Tabela 2). Essa variação no comprimento de raízes é um indicativo de variabilidade fenotípica dentro do grupo Carioca, que pode ser investigada para a seleção de plantas tolerantes ao déficit hídrico com base no sistema radicular. Os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nas condições do experimento. Nos genótipos IAPAR 81, IPR Campos e Aporé houve redução significativa do comprimento radicular sob o déficit hídrico (53%, 24% e 15%, respectivamente). Por outro lado, um aumento no crescimento das raízes sob o déficit hídrico foi observado nos genótipos de Carioca, BRS-Horizonte (32%), Carioquinha (36%), IAC Alvorada (92%), IAC carioca 80SH (26%), IAC Imperador (33%), IAPAR 57 (21%), IPR Juriti (28%) e Pérola (102%). O mesmo comportamento foi observado para os genótipos tolerantes BAT 477 (58%) e Pinto Saltillo (84%). Não houve diferença significativa entre a condição controle e de déficit hídrico para o comprimento de raízes dos genótipos BRS-Talismã, IAC Tybatã e para o genótipo referência SEA5 (Tabela 2). Resultados semelhantes para o comprimento radicular de um genótipo

de feijão comum submetido ao déficit hídrico a Cc 40% foram relatados, em que o estresse não afetou o crescimento das raízes (AMEDE; SCHUBERT, 2003).

O conteúdo relativo de água (RWC) é um parâmetro que permite descrever o status hídrico na planta, sendo uma variável capaz de responder as condições ambientais como temperatura, luz, humidade e água (KRAMER, 1989; TAIZ; ZEIGER, 2004). É uma característica com potencial para ser usada para o *sreening* de plantas tolerantes ao déficit hídrico em programas de melhoramento (RACHMILEVITCH; DACOSTA; HUANG, 2006). Para compreender as relações hídricas na planta sob o déficit hídrico, o RWC foi determinado, e a comparação entre os genótipos de feijão Carioca com os de referência demonstrou que houve variação significativa nas condições do experimento. Reduções significativas no RWC foram observadas em plantas submetidas à condição de déficit hídrico, destacando-se os genótipos Pérola (8%), BRS-talismã (11%), Carioquinha (16%), IAC imperador e IAPAR 57 (ambos 15%) (Tabela 3). Numa comparação feita entre um genótipo tolerante, o Pinto Villa, e o genótipo 'Carioca' considerado susceptível ao déficit hídrico foi observada uma redução no RWC de 13% e 21%, respectivamente (MONTALVO-HERNÁNDEZ, 2008). Os genótipos tolerantes BAT477, Pinto Saltillo e SEA5 apresentaram redução significativa do RWC quando comparamos as plantas sob o déficit hídrico em relação às plantas controle (variação de 5%-10%) (Tabela 3). Rosales et al. (2012), descreveram que houve a redução significativa no RWC para o genótipo Pinto Saltillo sob déficit hídrico moderado (Cc 50%) e severo (Cc 25%) quando comparado com plantas controle. Nossos resultados revelaram que não houve diferença significativa para o RWC entre plantas sob déficit hídrico e controle nos genótipos Aporé, BRS-Horizonte, IAC Alvorada, IAC Carioca 80SH, IAC Tybatã, IAPAR 81, IPR Campos, IPR Juriti e SEA 5. A ausência de diferença significativa para o RWC em genótipos de feijão comum foi descrita na literatura e a justificativa seria de que o RWC pode ser muito mais influenciado pela condutância estomática do que ser uma característica essencial para a tolerância ao déficit hídrico (RAMIREZ-VALLEJO; KELLY, 1998). Não foram observadas diferenças significativas para o RWC entre controle e tratamento (79% e 73%, respectivamente) nas condições do experimento.

A eficiência no uso da água (WUE) pode ser definida como a relação entre a taxa fotossintética e a condutância estomática, o aumento na fotossíntese e a redução na taxa de transpiração melhoram a WUE, e esse processo é essencial para a assimilação de carbono, produção de biomassa e aumento do rendimento sob o estresse (LIZANA et al., 2006; BLUM, 2010; BASU et al., 2016). Estudos demonstraram que plantas de feijão comum sob o déficit hídrico apresentaram alta WUE (DE COSTA; LIYANAGE, 1997; GOHARI, 2013).

Neste trabalho, a WUE foi determinada e não foram encontradas diferenças significativas entre plantas sob a condição controle em relação às plantas sob o déficit hídrico, e nenhuma diferença entre os genótipos foi observada nas condições do experimento (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados para WUE entre os genótipos de feijão comum G2227, BRA130583, CIATg690 e BAT477 sob déficit hídrico (FERRAZ et al., 2012).

A eficiência na carboxilação (Ec) é a razão entre a taxa fotossintética e a concentração interna de CO_2 (An/Ci) (MACHADO et al., 2005). Em relação à Ec, diferenças significativas foram observadas entre controle [0,069 (μmol m^{-2} s^{-1}) (μmol mol^{-1})$^{-1}$] e déficit hídrico [0,046 (μmol m^{-2} s^{-1}) (μmol mol^{-1})$^{-1}$]. Houve redução significativa na Ec para os genótipos Aporé (57%), BRS-Talismã (50%), BRS-Horizonte e IAPAR 57(43%), IAPAR 81 e IPR Campos (40%), BAT477, IAC Alvorada e IAC Imperador (34%). Não foram observadas reduções significativas na Ec para os genótipos: Carioquinha, IAC Carioca 80SH, IAC Tybatã, IPR Juriti, Pérola e para os genótipos tolerantes Pinto Saltillo e SEA5, sob o déficit hídrico (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados em relação à Ec para os genótipos de feijão comum G2227, BRA130583, CIATg690 e BAT477 sob o déficit hídrico (FERRAZ et al., 2012).

De acordo com Rosales et al. (2012), as respostas ao déficit hídrico são dependentes da intensidade do estresse, do genótipo da planta, do estágio de desenvolvimento entre outros fatores. A aplicação do estresse em genótipos de feijão Carioca durante a fase vegetativa foi essencial para a discriminação dos genótipos com maior tolerância e susceptibilidade ao déficit hídrico, sendo que, no que se refere às características relacionadas ao sistema radicular, MSR e comprimento, uma grande variação foi encontrada em plantas sob o estresse. White e Castillo (1992), avaliaram o rendimento e o crescimento de genótipos de feijão comum sob o déficit hídrico e concluíram que a variabilidade é muito maior em genótipos selecionados com base em características de raízes do que genótipos selecionados devido a características de parte aérea sob o estresse.

Tabela 3. Conteúdo relativo de água (RWC), Eficiência no Uso da água (WUE) e eficiência da Carboxilação (Ec) em genótipos de feijão Carioca e genótipos tolerantes submetidos ao déficit hídrico à capacidade de campo (Cc) de 30%

	RWC (%)		WUE (µmol CO2 mol^{-1} H2O)		Ec [(µmol m^{-2} s^{-1}) (µmol mol^{-1})$^{-1}$]	
	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%	Cc 80%	Cc 30%
BAT477	78,3 a	70,0 b (-10%)*	2,3 a	4,1 a	0,06 a	0,04 b (-34%)*
P. Saltillo	77,8 a	74,4 b (-5%)*	3,1 a	2,8 a	0,08 a	0,05 a
SEA5	81,8 a	76,3 b (-7%)*	2,7 a	2,0 a	0,06 a	0,04 a
Aporé	75,3 a	80,3 a	2,8 a	2,0 a	0,07 a	0,03 b (-57%)*
BRS-Horizonte	76,9 a	83,3 a	2,4 a	2,8 a	0,07 a	0,04 b (-43%)*
BRS-Talismã	77,7 a	69,0 b (-11%)*	2,7 a	2,6 a	0,08 a	0,04 b (-50%)*
Carioquinha	90,2 a	76,7 b (-16%)*	2,5 a	2,8 a	0,06 a	0,04 a
IAC alvorada	71,1 a	76,6 a	3,1 a	3,0 a	0,06 a	0,04 b (-34%)*
IAC Cari. 80SH	80,3 a	76,5 a	3,0 a	2,4 a	0,07 a	0,05 a
IAC imperador	65,8 a	55,9 b (-15%)*	3,7 a	3,0 a	0,06 a	0,04 b (-34%)*
IAC tybatã	75,5 a	69,3 a	1,9 a	2,2 a	0,07 a	0,04 a
IAPAR 57	86,7 a	74,4 b (-15%)*	2,5 a	2,2 a	0,07 a	0,04 b (-43%)*
IAPAR 81	65,0 a	65,0 a	2,4 a	2,1 a	0,08 a	0,05 b (-40%)*
IPR campos	69,0 a	63,4 a	2,1 a	2,9 a	0,08 a	0,05 b (-40%)*
IPR juriti	69,1 a	73,7 a	3,4 a	3,2 a	0,05 a	0,04 a
Pérola	81,8 a	75,6 b (-8%)*	2,3 a	2,2 a	0,07 a	0,05 a

Amostragem foi feita em plantas com 15 dias sob o déficit hídrico. WUE (taxa fotossintética/taxa de transpiração), Ec (Taxa fotossintética/concentração interna de CO_2).

[a, b] valores com a mesma letra para cada coluna não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey-Kramer HSD (q*=1,9855 α=0,05), em nível de 5% de significância.

* dados entre parênteses representam a diferença na porcentagem entre déficit hídrico e o controle, indicando diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0.05$) entre os genótipos.

Para a análise estatística multivariada, a análise de coordenadas principais (PCA) foi aplicada. Em relação aos dados fisiológicos de genótipos de Carioca sob estresse, no total 80.8% de variação pode ser explicada (Figura 4). Em relação a coordenada principal 1, 55.4% da variação encontrada entre os genótipos está relacionada ao parâmetro WUE. Em relação á coordenada principal 2, 25.4% da variação pode ser explicada pela condutância estomática (Figura 4).

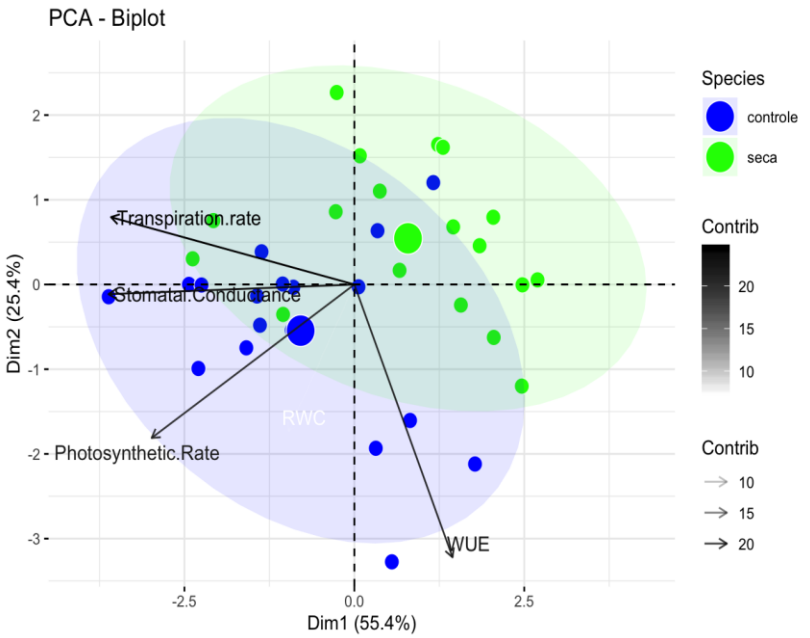


Figura 4. Análise de coordenadas principais parâmetros fisiológicos em genótipos de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico

Para entender a correlação entre as variáveis do estudo foi feita uma análise e os dados estão dispostos na Figura 5. A maior correlação encontrada ocorre ocorreu entre a taxa de transpiração e a condutância estomática (R^2=0.927).

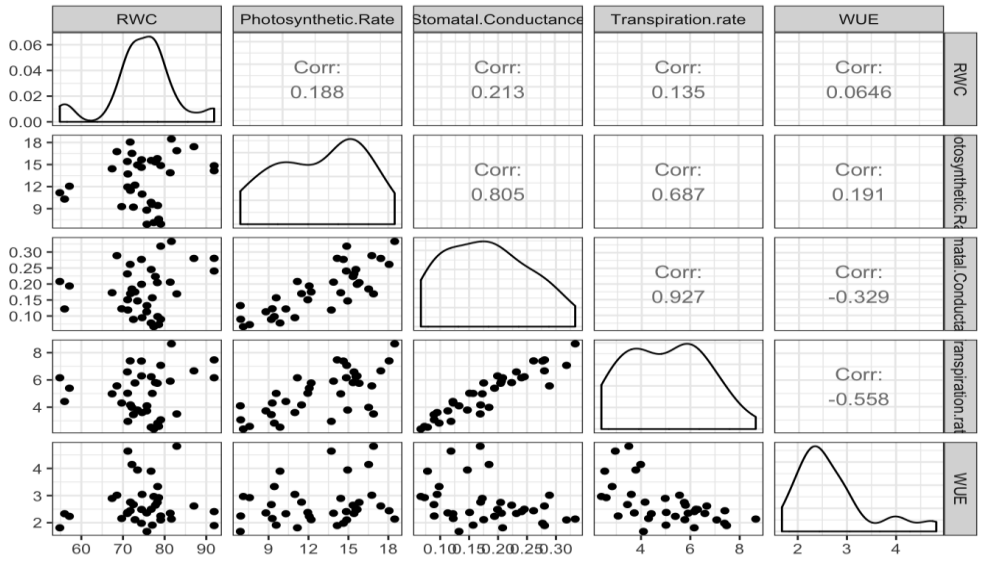


Figura 5. Correlação entre os parâmetros fisiológicos quantificados em genótipos de feijão Carioca sob déficit hídrico

Em relação aos dados morfológicos de genótipos de Carioca sob estresse, no total 79.2% de variação pode ser explicada (Figura 5). Em relação a coordenada principal 1, 53.9% da variação encontrada entre os genótipos está relacionada ao parâmetro Densidade e comprimento de raízes. Em relação á coordenada principal 2, 25.5% da variação pode ser explicada pela massa seca de raízes (Figura 5).

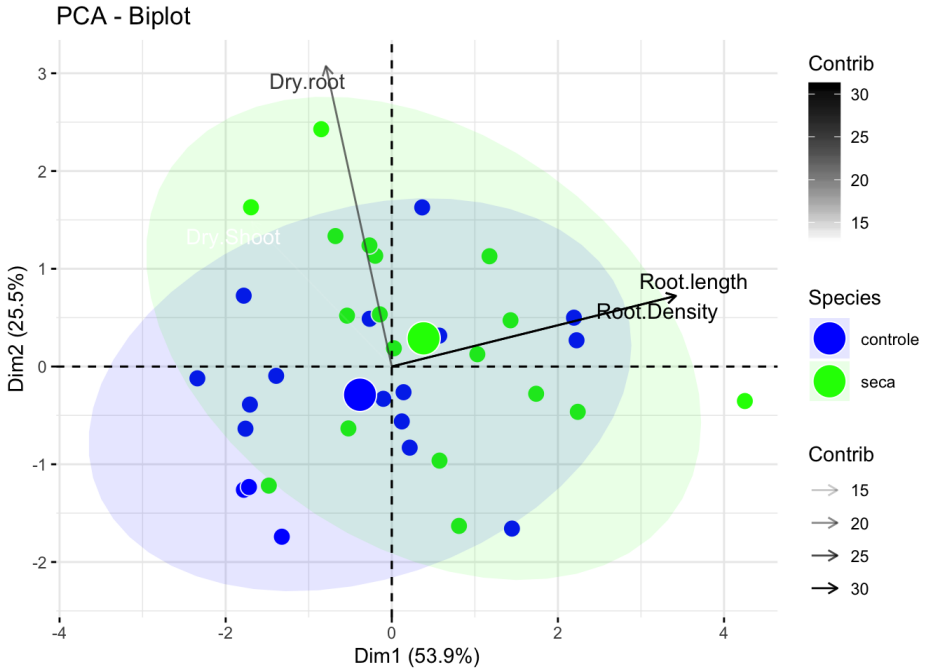


Figura 6. Análise de coordenadas principais parâmetros morfológicos em genótipos de feijão Carioca Submetidos ao déficit hídrico

Para entender a correlação entre as variáveis morfológicas do estudo foi feita uma análise e os dados estão dispostos na Figura 7. A maior correlação encontrada ocorre entre a densidade de raízes e o comprimento radicular (R^2=1).

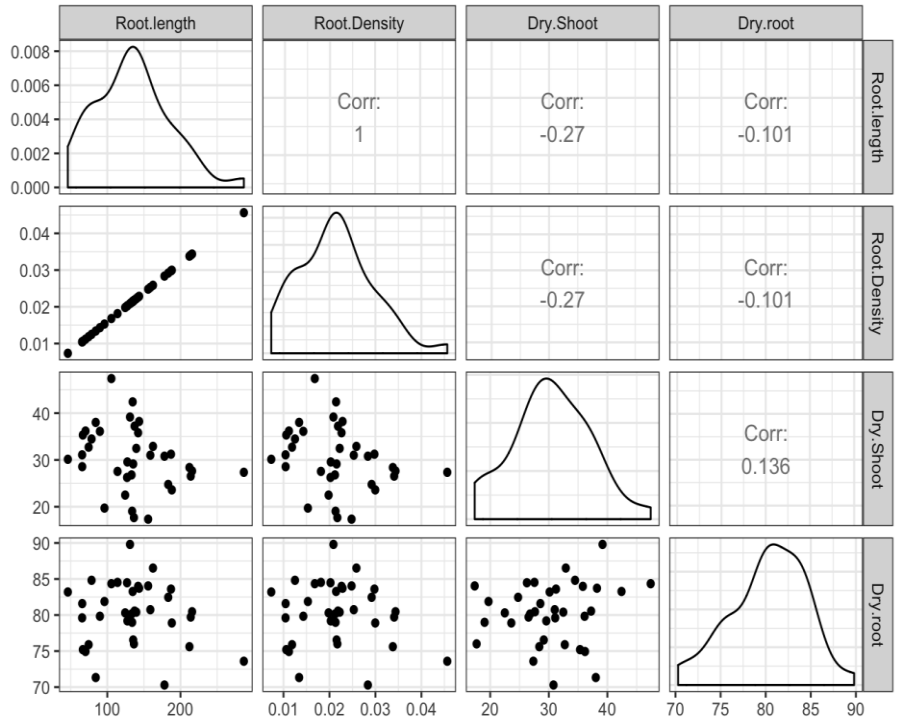


Figura 7. Correlação entre os parâmetros morfológicos quantificados em genótipos de feijão Carioca sob déficit hídrico

3.4. Conclusões

Através da genotipagem por SNPs foi possível acessar a diversidade genética nos genótipos de feijão Carioca usados neste estudo. Uma alta diversidade genética foi encontrada, no entanto, não houve separação de grupos distintos isso pode ter acontecido devido a pequena quantidade de genótipos sequenciados e ao grau de parentesco próximo entre as amostras.

Em plantas sob o déficit hídrico, ocorre à diminuição do RWC e do potencial hídrico na folha induzindo o fechamento dos estômatos, que leva a redução da concentração de CO_2 disponível e consequentemente ao declínio da taxa fotossintética e da WUE, que afetam diretamente o acúmulo de biomassa da planta sob o estresse. Plantas tolerantes ao déficit hídrico devem combinar um sistema de raízes melhorado, regulação estomática, WUE e balanço hormonal, e desse modo, se proteger dos efeitos negativos causados pelo estresse para manter o crescimento e o rendimento de grãos nessas condições (BASU et al., 2016).

A partir dos dados deste experimento podemos concluir que o déficit hídrico afetou negativamente o rendimento de biomassa dos genótipos de feijão Carioca sob o estresse sendo observada uma redução na MSPA para os genótipos Aporé, BRS-talismã, Carioquinha, IAC Alvorada, IAC Tybatã, IAPAR 57, IPR Campos e Pérola. No que se refere às características relacionadas ao sistema radicular, MSR e comprimento, os genótipos de Carioca com maior sensibilidade ao déficit hídrico em que foi observada redução na MSR apesar do aumento no crescimento das raízes foram o BRS-Talismã, BRS-Horizonte, IAC Imperador e Pérola. Os genótipos que apresentaram menor sensibilidade ao déficit hídrico com a manutenção da MSR e aumento significativo no crescimento das raízes foram o Carioquinha, IAC Alvorada, IAC Carioca 80SH e IAPAR 57. Apesar da manutenção da MSR nos genótipos Aporé, IAPAR 81 e IPR Campos foram observadas a inibição no crescimento das raízes sob o déficit hídrico. Os genótipos IAC Carioca 80SH e IPR Juriti foram considerados tolerantes ao déficit hídrico por apresentarem manutenção/aumento da biomassa da planta sob o estresse (MSPA e MSR), bem como, aumento no crescimento de raízes. Os genótipos com maior susceptibilidade ao déficit hídrico foram o BRS-talismã e Pérola, por apresentarem diminuição na biomassa da planta sob o estresse apesar do aumento no crescimento das raízes.

O experimento conduzido em casa de vegetação usando a técnica de *screening* em tubos de PVC foi de grande importância para determinar as diferenças fenotípicas na habilidade de crescimento das raízes entre os genótipos de feijão Carioca sob o déficit hídrico, entretanto, existe a necessidade de estudos complementares em campo para avaliar as características relacionadas à tolerância à seca para validar os resultados encontrados para a tolerância/susceptibilidade dos genótipos de feijão Carioca ao estresse.

Usando a análise de coordenadas principais podemos concluir que em relação aos dados fisiológicos de genótipos de Carioca sob estresse, no total 80.8% de variação pode ser explicada. Em relação aos parâmetros morfológicos, 79,2% da variação pode ser explicada sendo que 53,9 % foi atribuída a Densidade e comprimento de raízes e 25.5% a massa seca de raízes.

Referências

ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; ADAMS, M. V. Plant traits and yield stability of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under drought stress. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 117, p. 213-219, 1991.

ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; WHITE, J. W. Phenological plasticity as an adaptation by common bean to rainfed environments. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 199–204, 1995.

AMBACHEW, F.; MEKBIB, A.; ASFAW, S. E.; BEEBE, M. W.; BLAIR, D. Trait associations in common bean genotypes grown under drought stress and field infestation by BSM bean fly. **Crop Journal**, Amsterdam, v. 3, p. 305–316, 2015.

AMEDE, T.; SCHUBERT, S. Mechanisms of drought resistance in grain legumes II: stomatal regulation and root growth. **Ethiopy Journal of Science**, Makhanda, South Africa, v. 26, p. 137–144, 2003.

ANJUM, S. A.; XIE, S.; WANG, L.; SALEEM, M. L.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal Agricultural Research**, Kenia, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

ARAÚJO, G. A. A. **Avaliação de cultivares de feijão a diferentes regiões do Estado de Minas Gerais**. Viçosa: EPAMIG, 1991. 13 p. Relatório

ARRUDA, I. M.; MODA-CIRINO, V.; KOLTUN, A.; DOS SANTOS, O. J. A. P.; MOREIRA, R. S.; MOREIRA, A. F. P.; GONÇALVES, L. S. A. Physiological, biochemical and morphoagronomic characterization of drought-tolerant and drought-sensitive bean genotypes under water stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, Lucknow, v. 24, n. 6, p. 1059–1067, 2018. doi: 10.1007/s12298-018-0555-y.

ASSEFA, T.; BEEBE, E. S.; RAO, M. I.; CUASQUER, B. J.; DUQUE, C. M.; RIYERA, M.; BATTISTI, A.; LUCCHIN, M. Pod harvest index as a selection criterion to improve drought resistance in white pea bean. **Field Crops Research,** Amsterdam, v. 148, p. 24–33, 2013.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, East Melbourne, v. 15, n. 3, p. 413-428, 1962.

BASU, S.; RAMEGOWDA, V.; KUMAR, A.; PEREIRA A. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research,** London, v. 5, p. 1554, 2016. doi: 10.12688/f1000research.7678.1.

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

BEEBE, S. E.; RAO, I.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 4, art. 35, p. 1-20, 2013. doi: 10.3389/fphys.2013.00035.

BEEBE, S. E.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. In: RIBAUT, J. M.; MONNEVEUX, P. (Ed.). **Drought phenotyping in crops**: from theory to practice. Texcoco, Mexico: Generation Challenge Program, 2010. p. 311-334. (Special Issue on Phenotyping).

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

BLUM, A. **Plant breeding for water-limited environments**. New York: Springer Publisher, 2010. 255 p.

BLAIR, M. W.; ASTUDILLO, C.; GRUSAK, M.; GRAHAM, R.; BEEBE, S. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 23, p. 197-207, 2009.

BLAIR, M. W.; CORTÉS A. J. Identification of an *ERECTA* gene and its drought adaptation associations with wild and cultivated common bean. **Plant Science**, Amsterdam, v. 22, p. 250-259, 2016. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.08.004

BERKOWITZ, G. A.; GIBBS, M. Reduced osmotic potential effects on photosynthesis: identification of stromal acidification as a mediating factor. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 71, n. 4, p. 905-911, 1983.

BORGES, A.; TSAI, S. M.; CALDAS, D. G. G. Validation of reference genes for RT-qPCR normalization in common bean during biotic and abiotic stresses. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 31, p. 827-838, 2012.

BOUTRAA, T.; SANDERS, F. E. Influence of water stress on grain yield and vegetative growth of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal Agronomy and Crop Science**, Heidelberg, v. 187, n. 4, p. 251-257, 2001.

BRAY, E. A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 103, p. 1035-1040, 1993.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 2, p. 48–54, 1997.

BURT, A. J.; WILLIAM, H. M.; PERRY, G.; KHANAL, R.; PAULS, K. P.; KELLY, J. D.; NAVABI, A. Candidate Gene Identification withSNP Marker-Based Fine Mapping of Anthracnose Resistance Gene Co-4 in Common Bean. **PLoSOne**, San Francisco, v. 10, n. 10, p. 1-19, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0139450.

CICHY, K. S.; PORCH, T. G.; BEAVER, J. S.; CREGAN, P.; FOURIE, D.; GLAHN, R. P., et al. A diversity panel for Andean bean improvement. **Crop Science**, Madison, v. 55, n. 5, p. 2149-2160, 2015. doi: 10.2135/cropsci2014.09.0653.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 234, p. 1–16, 1991.

CHOMCZYNSKI, P.; MACKEY, K.; DREWS R.; WILFINGER, W. DNAzol®: A Reagent for the Rapid Isolation of Genomic DNA. **BioTechniques**, Natick, v. 22, n. 3, p. 550-553, 2018. doi: 10.2144/97223pf01.

CORTÊS, A. J.; CHAVARRO, M. C.; BLAIR, M. W. SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 123, p. 827-845, 2011. doi: 10.1007/s00122-011-1630-8.

CORTÉS A. J.; CHAVARRO M. C.; MADRIÑÁN, S.; THIS D.; BLAIR M. W. Molecular ecology and selection in the drought-related *Asr* gene polymorphisms in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Genetics**, London, v. 13, art. 58, 2012. doi: 10.1186/1471-2156-13-58.

DE COSTA, W. A. J. M.; LIYANAGE, L. P. Effects of potassium and water availability on water use efficiency of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of National Science Foundation of Sri Lanka**, Colombo, Sri Lanka, v. 25, p. 241–254, 1997.

DAI, A. Increasing drought under global warming in observations and models. **Nature Climate Change**, London, v. 3, p. 52-58, 2012.

DIAZ, L. M.; RICAURTE, J.; TOVAR, E.; CAJIAO, C.; TERAÂN, H.; GRAJALES, M.; POLANÍA, J.; RAO, I.; BEEBE, S.; RAATZ, B. QTL analyses for tolerance to abiotic stresses in a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population. **PLoS One**, San Francisco, v. 13, n. 8, e0202342, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0202342.

DOS SANTOS, A.; CORREA, A. M.; DE MELO, C. L. P.; DURANTE, L. G. Y.; CARNEIRO, T.; DE OLIVEIRA, R. Agronomic performance of common bean genotypes grown in the dry season in Aquidauana-MS. **Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 11, p. 33-42, 2011.

DO VALE, N. M.; BARILI, L. D.; ROZZETO, D. S.; STINGHIN, J. C.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; KÖOP, M. M. Avaliação para tolerância ao estresse hídrico em feijão. **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 135-144, 2012.

FRAHM, M. A.; ROSAS, J. C.; MAYEK-PÉREZ, N.; LÓPEZ-SALINAS, E.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; KELLY, J. D. Breeding beans for resistance to terminal drought in the Lowland Tropics. **Euphytica**, Dordrecht, v. 136, p. 223-232, 2004.

FAO. **FAOSTAT**. Crops. Rome, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 15 ago. 2018.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 6, p. 269–279, 2004.

FERRAZ, R. L. DE S.; DE MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; DE BRITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; JÚNIOR, E. DA S. N. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Agropecuária Tropical**, Goiânia. v. 42, n. 2, p. 181-188, 2012.

FRANÇA, M. G. C.; THI, A. T. P.; PIMENTEL, C.; ROSSIELLO, R. O. P.; ZUILY-FODIL, Y.; LAFFRAY, D. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 43, p. 227-237, 2000.

GAITAN, E.; CHOI, I. Y.; QUIGLEY, C.; CREGAN, P.; TOHME, J. Single nucleotide polymorphisms in common bean: their discovery and genotyping using a multiplex detection system. **Plant Genome**, Madison, v. 1, p. 125–134, 2008.

GALEANO, C. H.; FERNANDEZ, A. C.; GOMEZ, M.; BLAIR M. W. Single strand conformation polymorphism based SNP and Indel markers for genetic mapping and synteny analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Genomics**, London, v. 10, p. 629, 2009. doi: 10.1186/1471-2164-10-629.

GEPTS, P.; BLISS, F. A. F1 hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. **The Journal of Heredity**, Baltimore, v. 76, p. 47–450, 1985.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Origin, domestication, and evolution of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. In: VOYSEST O, Van SCHOONHOVEN A (Ed.). **Common beans**: research for crop improvement. Wallingford: CAB International, 1991. p. 7–53.

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**, Bronx, NY, v. 40, p. 451–468, 1986.

GOHARI, A. A. Effects of water infiltration of soil on yield and water use efficiency of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Agronomy and Plant Production**, London, v. 4, n. 3, p. 459-463, 2013.

GONÇALVES, J. G. R. **Identificação de linhagens de feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.) **tolerantes à seca**. 2013. 82 p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2013.

GUPTA, P. K.; RUSTGI, S.; MIR, R. R. Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement. **Heredity**, London, v. 101, p. 5-18, 2008. doi: 10.1038/hdy.2008.35.

HALL, A. E. Comparative ecophysiology of cowpea, common bean and peanut. In: Nguyen, H. T.; Blum, A. (Ed.). **Physiology and biotechnology integration for plant breeding**. NewYork, NY: MarcelDekker, 2004. p. 271–325.

HANAI, L. R.; SANTINI, L.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; GEPTS, P.; TSAI, S. M.; VIEIRA, M. L. C. Extension of the core map of common bean with EST-SSR, RGA, AFLP, and putative functional markers. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, p. 25–45, 2010.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growning plants without soil**. Davis: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32 p. (Circular, 347).

KELLER, B.; MANZANARES, C.; JARA, C.; LOBATON, J. D.; STUDER, B.; RAATZ, B. Fine-mapping of a major QTL controll in gangular leaf spot resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 128, p. 813-826, 2015. doi: 10.1007/s00122-015-2472-6.

KRAMER, P.J. **Plant and Soil Water Relationships**: A Modern Synthesis. New York: McGraw-Hill, 1989.

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**, Berlin, v. 118, p. 979–992, 2009.

KONZEN, E. R.; RECCHIA, G. H.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G.; BERNY, J. C.; GEPTS, P.; TSAI, S. M. DREB Genes from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) show broad to specific abiotic stress responses and distinct levels of nucleotide diversity. **International Journal of Genomics**, New York, art. ID 9520642, 28 p. 2019. doi: 10.1155/2019/9520642.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 275–294, 2002.

LIZANA, C.; WENTWORTH, M.; MARTINEZ, J. P.; VILLEGAS, D.; MENESES, R.; MURCHIE, E. H.; PASTENES, C.; LERCARI, B.; VERNIERI, P.; HORTON, P.; PINTO, M. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress.I. Effects of drought on yield and photosynthesis. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 57, p. 685–697, 2006.

LYNCH, J.; VAN BEEM, J. Growth and architecture of seedling roots of common bean genotypes. **Crop Science**, Madison v. 33, p. 1253-1257, 1993.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MANJERU, T.; MADANZI, B.; MAKEREDZA, A.; NCIIZAH, M.; SITHOLE, P. Effect of Water Stress at Different Growth Stage on Components and Grain Yield of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: AFRICAN CROP SCIENCE CONFERENCE, 8., 2007, Kampala, Uganda. **Proceedings…** Kampala, Uganda: African Crop Science Society, 2007. p. 299-303.

MELO, A. S.; JÚNIOR, C. D. DA S.; FERNANDES, P. D.; SOBRAL, L. F.; BRITO, M. E. B.; DANTAS, J. D. M. Alterações das características fisiológicas da bananeira sob condições de fertirrigação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 733-741, 2009.

McCONNELL, M.; MAMIDI, S.; LEE, R.; CHIKARA, S.; ROSSI, M.; PAPA, R.; McCLEAN, P. Syntenic relationships among legumes revealed using a gene-based genetic linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 121, p. 1103–1116, 2010.

MONTALVO-HERNÁNDEZ, L.; PIEDRA-IBARRA, E.; GÓMEZ-SILVA, L.; LIRA-CARMONA, R.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; VAZQUEZ-MEDRANO, J.; XOCONOSTLE-CÁZARES, B.; RUÍZ-MEDRANO, R. Differential accumulation of mRNAs in drought-tolerant and susceptible common bean cultivars in response to water deficit. **New Phytologist**, London, v. 177, p. 102–113, 2008.

MORAES, W. B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G. O.; CAETANO, S. P.; MORAES, W. B. Seleção de genótipos de feijoeiro à seca. **IDESIA**, Arica, Chile, v. 28, n. 2, p. 53-59, 2010.

NIELSEN, D. C.; NELSON, N. O. Black bean sensitivity to water stress at various growth stages. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 422–427, 1998.

PASTENES, C.; PIMENTAL, P.; ANDLILLO, J. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field grown beans. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 56, p. 425–433, 2005.

PAPA, R.; GEPTS, P. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, p. 239–250, 2003.

PERSEGUINI, J. M. K. C.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; COLOMBO, C. A.; CARBONELL, S. A. M.; MONDEGO, J. M. C.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; DE CAMPOS, T.; DE SOUZA, A. P.; BENCHIMOL RUBIANO, L. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. **Genetics and Molecular Biology**, Riberão Preto, v. 34, n. 1, p. 88-102, 2011.

POLANÍA, J. A.; RAO, I. M.; BEEBE, S.; GARCÍA, R. Desarrollo y distribucíon de raíces bajo estrés por sequia en frígol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en un sistema de tubos con suelo. **Agronomia Colombiana**, Bogotá, v. 27, n. 1, p. 25-32, 2009.

RACHMILEVITCH, S.; DA COSTA, M.; HUANG, B. Physiological and biochemical indicators for stress tolerance. In: Huang, B. (Ed.). **Plant environment interactions**. 3. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006. p. 321–356.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C., PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011.

RAMOS, M. L. G.; GORDON, A. J.; MINCHIN, F. R.; SPRENT, J. I.; PARSONS, R. Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annals of Botany**, Oxford, v. 83, p. 57–63, 1999.

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

RAO, I. M. Advances in improving adaptation of common bean and Brachiaria forage grasses to abiotic stresses in the tropics. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop physiology**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2014a. p. 847–889.

RAO, I. M. Role of physiology in improving crop adaptation to abiotic stresses in the tropics: the case of common bean and tropical forages. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop physiology**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2014b. p. 583–613.

RAO, I. M.; BEEBE, S.; POLANIA, J.; RICAURTE, J.; CAJIAO, C.; GARCIA, R., et al. Can tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean? **African Crop Science Journal**, Makhanda, South Africa, v. 21, p. 265–281, 2013.

RAO, I. M.; POLANIA, J.; GARCIA, R.; BEEBE, S. Development of a greenhouse soil tube method to quantify phenotypic differences among advanced lines in root development and distribution under drought stress. In: CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA

TROPICAL. **Project IP-1**: Bean improvement for the tropics Annual Report. Cali, Colombia: CIAT, 2006. p. 19-25.

RECCHIA, G.; CALDAS, D.; BERALDO, A.; DA SILVA, M.; TSAI, S. Transcriptional Analysis of Drought-Induced Genes in the Roots of a Tolerant Genotype of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, p. 7155-7179, 2013.

ROSALES, M. A.; OCAMPO, E.; RODRÍGUEZ-VALENTÍN, R.; OLVERA-CARRILLO, Y.; ACOSTA-GALLEGOS, A.; COVARRUBIAS, A. A. Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 56, p. 24–34, 2012.

SPONCHIADO, B. N.; WHITE, J. W.; CASTILLO, J. A.; JONES, P. G. Root growth of four common bean cultivar sin relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 25, p. 249–257, 1989.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; PANNEERSELVAM, R.; SHAO, M. A. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants-biotechnologically and sustainably improving agriculture and the ecoenvironment in arid regions of the globe. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 29, p. 131-151, 2009.

SINGH, S. P. Drought resistance in the race Durango dry bean landraces and cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v. 99, p. 1219–1225, 2007.

SINGH, S. P.; TERA´N, H.; GUTIERREZ, J. A. Registration of SEA5 and SEA13 drought tolerant dry bean germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 41, p. 276–277, 2001.

SINGH, S. P.; GUTIÉRREZ, 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**, Madison, v. 31, p. 23–29, 1991.

SONG, Q.; JIA, G.; HYTEN, D. L.; JENKINS, J.; HWANG, E. Y.; SCHROEDER, S. G.; OSORNO, J. M.; SCHMUTZ, J.; JACKSON, S. A.; McCLEAN, P. E.; CREGAN, P. B. SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole-genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 5, n. 11, p. 2285–2290, 2015.

SOUZA, M. G.; DE TARSO, S. A.; GIAVENO, C. D.; DE OLIVEIRA, R. F. Drought stability in different yield reduction due to drought stress are attributed to common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) genotypes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 3, p. 203-208, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 30-55.

TERA´N, H.; SINGH, S. P. Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 64–70, 2002.

VALDISSER, P. A. M. R.; PEREIRA, W. J.; ALMEIDA, J. E.; MUÜLLER, B. S. F.; COELHO, G. R. C.; DE MENEZES, I. P. P. In-depth genome characterization of a Brazilian common bean core collection using dartseq high-density Snp genotyping. **BMC Genomics**, London, v. 18, p. 423, 2017. doi: 10.1186/s12864-017-3805-4.

WHITE, J. W.; CASTILLO, J. A. Evaluation of diverse shoot genotypes on selected root genotypes of common bean under soil water deficits. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 762–765, 1992.

WHITE, J. W.; OCHOA, R. M.; IBARRA, F. P.; SINGH, S. P. Inheritance of seed yield, maturity and seed weight of common bean (Phaseolus vulgaris) under semi-arid rainfed conditions. **Journal of Agricultural Science**, London, v. 122, p. 265–273, 1994.

YU, F.; BERG, V. S. Control of paraheliotropism in two Phaseolus species. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 106, p. 1567–1573, 1994.

ZLATEV, Z.; STOYANOV, Z. Effects of water stress on leaf water relations of young bean plants. **Journal of the Central European Agriculture**, Zagreb, v. 6, p. 5-14, 2005.

4 ESTUDO 2: Análise do perfil de expressão gênica por RT-qPCR em raízes de feijão carioca sob déficit hídrico

Resumo

Sob condições de déficit hídrico, é necessária a adaptação das plantas para sobrevivência e reprodução. Alterações a nível celular e molecular ocorrem pela regulação da expressão de genes que são responsivos ao estresse. Com o objetivo de entender os mecanismos de resposta e adaptação, treze genes pertencentes a quatro categorias: (i) fatores de transcrição, (ii) transportadores de membrana, (iii) síntese de ABA e (iv) ciclo celular foram quantificados em raízes de genótipos de Carioca sob déficit hídrico. Para esta análise, foram selecionados dois genótipos de feijão Carioca tolerantes (IAC Imperador e IAC Carioca 80SH) e dois suscetíveis (IAC Alvorada e Pérola) ao déficit hídrico. A análise de cordenadas principas revelou que para o componente principal 1, 61,2% da variação pode ser explicada e houve correlação com a WUE. A expressão gênica foi diferenciada entre os genótipos de Carioca suscetíveis e tolerantes ao déficit hídrico, sendo observado um aumento na expressão de genes relacionados ao crescimento e proliferação celular (*PvCYCD7*, *PvPSK* e *PvNAM*) em raízes dos genótipos de Carioca tolerantes ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, Carioca, Déficit hídrico, RT-qPCR, Sistema radicular.

4.3 Introdução

Durante todas as fases do seu ciclo de vida, as plantas (que são organismos sésseis) podem sofrer danos causados por estresses bióticos e abióticos. Os estresses abióticos são caraterizados como déficit de nutrientes, irradiação ultravioleta (UV), altas ou baixas temperaturas, alta salinidade e déficit hídrico (BEEBE, et al., 2008). Devido as mudanças climáticas, altas temperaturas e baixa precipitação de chuvas, estima-se que a seca tem afetado mais da metade da produção de feijão no mundo todo (BEEBE et al., 2013). Com isso, o alvo principal de alguns programas de melhoramento tem sido o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao déficit hídrico (ACOSTA-GALLEGOS; WHITE, 1995; SINGH; TERA´N; GUTIERREZ, 2001; MIKLAS et al., 2006; ACOSTA-DÍAZ, 2009).

A baixa disponibilidade de água na célula para o desempenho de funções celulares é a definição de déficit hídrico e os mecanismos de resposta incluem a percepção, a transdução dos sinais de estresse e a adaptação, que envolvem a biossíntese do ácido abscísico (ABA) simultaneamente a ativação da expressão de genes de efeito maior que regulam a expressão de

outros genes em diferentes vias metabólicas e a síntese de proteínas que levam a respostas fisiológicas, metabólicas e morfológicas essenciais para a sobrevivência das plantas (ZHU, 2002; SHINOZAKI, et al., 2003; SEKI et al., 2003; STAIGER; BROWN, 2013).

A resposta ao déficit hídrico a nível molecular envolve a alteração da expressão de genes que podem ativar vias de sinalização na célula. Em uma análise de transcriptoma em larga escala, Shinozaki e Yamaguchi-Shinozaki (2006), classificaram os genes de resposta ao estresse em dois grupos. O primeiro grupo foi constituído de genes transportadores de membrana (que controlam o transporte passivo), aquaporinas (transporte de água), osmoprotetores (acúmulo de solutos compatíveis), canais de íons, e enzimas de desintoxicação como glutathiona S-transferase, catalase, superóxido dismutase, ascorbato peroxidase (proteção e estabilização das estruturas celulares contra a dessecação e danos causados por espécies reativas de oxigênio) (WARD et al., 1994; TAMURA et al., 2003; KLEIN et al., 2004; BARTELS, 2001). O segundo grupo é composto por genes que apresentam proteínas que modulam a expressão gênica através da transdução de sinal via fatores de transcrição, proteínas fosfatases (fosfoesterases e fosfolipase C, etc), proteinases, *calcium dependente protein kinase* (CDPKs) e *mitogen activated protein kinase* (MAPKs).
A expressão destas proteínas funcionais é regulada por fatores de transcrição específicos que atuam na regulação da expressão gênica (SINGH et al., 2002; ZHU, 2002; SHINOZAKI et al., 2003; SEKI et al., 2003; HONGHONG et al., 2006).

Alterações morfológicas podem ser observadas em resposta ao déficit hídrico. A redução da área foliar ocorre devido à diminuição na pressão de turgor e prejudica a capacidade fotossintética, e consequentemente a produção de biomassa (BLUM, 1996; BEEBE et al., 2013).

O aumento no crescimento das raízes é outra adaptação morfológica identificada em plantas tolerantes ao déficit hídrico. Um sistema de raízes robusto confere suporte para o crescimento rápido nos estágios iniciais de crescimento e para a extração de água em camadas mais profundas do solo, aumentando a capacidade de captação de água (CALVACHE et al., 1997).

A análise do perfil da expressão gênica em raízes de feijoeiro sob déficit hídrico revelou que genes envolvidos na embriogênese, organização do citoesqueleto, proliferação celular, crescimento e diferenciação celular, ciclo celular, morfogênese, síntese de hormônios são regulados (ativados e/ reprimidos) em resposta ao déficit hídrico (RECCHIA et al., 2013a; RECCHIA et al., 2018).

No capítulo 1, identificamos que uma das principais respostas de adaptação ao déficit hídrico é o aumento da massa seca e do comprimento radicular. Com base nessas informações, o objetivo deste trabalho foi analisar o perfil da expressão gênica por RT-qPCR em raízes de feijão Carioca submetidas ao déficit hídrico.

4.4 Materiais e Métodos

4.2.1 Material vegetal e condições de déficit hídrico do experimento

A partir dos resultados descritos no Capítulo 1, os genótipos IAC alvorada (suscetível), Pérola (suscetível), IAC Carioca 80 SH (tolerante), IAC Imperador (tolerante) e os genótipos referência para a tolerância ao déficit hídrico (Pinto saltillo e BAT477) foram submetidas as condições de déficit hídrico severo conforme descrito no tópico 3.2.2 do Capítulo 1.

4.2.2 Parâmetros fisiológicos avaliados nas plantas sob o estresse

Todos os parâmetros fisiológicos e morfológicos foram avaliados conforme a descrição do item 3.2.3 no capítulo 1.

4.2.3 Extração de RNA total e Síntese de cDNA

A extração do RNA total a partir de raízes de feijão foi conduzida utilizando o reagente *Trizol*® (Life Technologies©) seguindo as instruções do fabricante. A qualidade do RNA total e a concentração nas amostras foram determinadas por absorbância em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 260 a 280 nm, e a integridade foi verificada em gel de agarose 1% corado com *GelRed*®. As amostras foram então tratadas com DNase I® (Thermo Scientific) segundo as instruções do fabricante.

A síntese do cDNA por RT-PCR foi realizada utilizando 100 ng de RNA total e o kit *Maxima First Strand cDNA Synthesis*® (Thermo Scientific), de acordo com as instruções do fabricante. O programa usado para a reação de síntese foi: 10 minutos a 25°C, 15 minutos a 50°C e 5 minutos a 85°C. O produto foi usado diretamente na reação para amplificação do fragmento.

4.2.4 Desenho dos *Primers*

Onze pares de *primers* foram desenhados para amplificação de 11 transcritos que são induzidos em raízes de feijoeiro sob déficit hídrico (RECCHIA et al., 2013; MANAVALAN et al., 2015; RECCHIA et al., 2018). Dois genes identificados em soja GmEXP1 (LEE et al., 2003) e GmEXP2 (GUO et al., 2011) que estão envolvidos em expansão da parede celular, foram usados para uma busca de sequências ortólogas e dois pares de *primers* correspondentes foram desenhados para amplificação em feijão. No total treze genes foram amplificados em raízes de feijoeiro na condição controle e também sob déficit hídrico (Tabela 4). A temperatura de *melting* (Tm) dos *primers* foi igual a 60°C, cada *primer* possuiu aproximadamente 20 pb e porcentagem de GC entre 50-60%. Após o desenho dos *primers*, com a ajuda do programa *NetPrimer*, o próximo passo foi verificar a probabilidade de formação de estruturas secundárias pela interação dos iniciadores entre si utilizando-se o programa *Primer3plus*.

Tabela 4. Sequência dos *primers* utilizados para RT-qPCR dos 13 genes selecionados neste estudo

Genes selecionados	**Forward (5´-3´) e Reverse (3´-5´)**	**Nome**	**Função**	**Referência**	**Processo biológico**
Phvul.001G003700.1	F: ATCTGTCACCATAACCGCCAC R: CCTAACCCCTCCGTGCTTTT-	Expansina A11	Organização da parede celular	GmEXP1 Lee et al., 2003	Expansão da Parede celular
Phvul.008G144100.1	F:GTGAAGGTGGAGCTTGTGGATAC R: CACACCCAGCACACTCATCAGT	Beta-expansina A6	Protéina extracelular	GmEXP2 Guo et al., 2011	Expansão da Parede celular
Phvul.002G117700.1	F: ATGGTGGTTTATGCCCGTTA R: CAAATGGTCCTCCCTTCTCA	Transportador de membrana	Proteína transportadora de Auxina	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018; Prince et al., 2015	Transportador de membrana
Phvul.004G136000	F: ATCTGTCACCATAACCGCCAC R: CCTAACCCCTCCGTGCTTTT	MIP	(Aquaporina 3.1) PvPIP3;1	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Aquaporina
Phvul.002G239100.1	F: GGCACCACTACTCCAGCATCTC R: AGTCGCAAATCAGGCATCCA	MYB	MYB-LIKE	Manavalan et al., 2015	Fator de transcrição
Phvul.007G231800	F: CTGGGAGAGTGACGAGAAGC R: AGAACCGAATGGCAGGAGTG	MYB 79	MYB-LIKE 79	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 201	Fator de transcrição
Phvul.001G029200	F: GACTTCCGAGACCGTGAAACC R: GTAGCCCGTGTCGTCGAAAA	PSK	proteína precursora fitosulfoquinona	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Estimula a proliferação celular
Phvul.005G051600	F:GTGAAGGTGGAGCTTGTGGATAC R:CACACCCAGCACACTCATCAGT	Carotenóide oxigenase	Precursor de ABA *PvNCED*	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Síntese de ABA
Phvul.007G016600	F: GGCACCACTACTCCAGCATCTC R: AGTCGCAAATCAGGCATCCA	MS	Mechanosensitive ion chanel	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Transportador de Membrana
Phvul.007G138300	F: ATCCACACCAGCAAACCCTC R: ATGACACAAAACCCACCCGA	Hsp17	Heat-Shock protein	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Fator de transcrição
Phvul.011G147800	F: GGAGTGCTGGGACTACAACG R: TTAGGAGCGGCAAGAGACAC	NAM	No meristem (NAM) protein	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018;	Fator de transcrição
Phvul.011G049900	F: AGCCTCTCCGAACTCCATTTA R: GCCTTCCTTGCTTGTTCATTCA	F-BOX		Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Fator de transcrição
Phvul.010G015500	F: TCCTGTTGAAGGCATTGGGG R: GGAGTTGAGTGGCTGGTGAA	Ciclina D7	Cyclin, N-terminal Domain 7	Recchia et al., 2013b; Recchia et al., 2018	Ciclo celular

4.2.5 Análise da expressão de 13 genes em raízes de feijão Carioca por RT-qPCR

Quatro genótipos de feijão Carioca e dois genótipos referência para a tolerância foram submetidos ao déficit hídrico severo conforme descrito no tópico 4.2.2. Treze genes foram selecionados para serem quantificados em raízes de feijoeiro e o desenho dos *primers* foi descrito no tópico 4.2.4. O RNA total foi extraído de amostras de raízes de feijão sob controle e déficit hídrico e a síntese de cDNA foi realizada conforme descrito no tópico 4.2.3. Após a síntese, 1μL de cDNA de cada amostra foi usado na reação de RT-qPCR com o *kit SYBR® Green/ROX qPCR Master Mix* de acordo com as instruções do fabricante. O equipamento usado para as reações foi *StepONE Plus™ Real Time PCR System* da *Applied Biosystems©*. As condições da reação foram: 95ºC por 10 min, 40 ciclos de 95ºC por 30 s, 60ºC por 30 s, 72ºC por 30 s com coleta de dados. Para a curva de *melting* as condições foram: 95ºC por 15 s, 60ºC por 1 min e 95ºC por 15 s com coleta de dados a cada incremento de +0,7ºC.

Após a corrida, os dados foram exportados do software do equipamento e os valores de eficiência de cada reação foram corrigidos no programa *LinReg* PCR (v.11.0). Após a correção, os dados foram analisados no programa *REST* 2009 (QIAGEN©) para estimar o valor da expressão gênica relativa entre amostras comparando controle x déficit hídrico em todos os genótipos avaliados. Dois genes de referência ou controles endógenos, Actina e o Unknown, foram usados como normalizadores internos por apresentarem maior estabilidade de expressão em plantas de feijão sob déficit hídrico (BORGES et al., 2012).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Análises morfo-fisiológicas em 4 genótipos de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico

Com os resultados obtidos no capítulo 1, foram selecionados quatro genótipos de feijão Carioca com perfis contrastantes para a tolerância ao déficit hídrico. Os genótipos IAC Alvorada e Pérola foram considerados suscetíveis ao déficit hídrico, enquanto que os genótipos IAC Imperador e IAC Carioca 80 SH foram considerados tolerantes. Os genótipos Pinto Saltillo e BAT477 têm histórico de melhoramento e foram usados como referência para tolerância (ACOSTA-GALLEGOS; WHITE, 1995; SINGH; TERA´N; GUTIERREZ, 2001).

Os dados obtidos dos parâmetros fisiológicos foram usados para a análise estatística multivariada de coordenadas principais (Figura 8). Os resultados revelam que para o componente principal 1, 61.2% da variação observada pode ser explicada e está relacionada a

eficiência no uso da água (WUE). Não foram observadas diferenças significativas para a WUE em plantas na condição controle. No entanto, quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico, a WUE se manteve nos genótipos suscetíveis e aumentou nos genótipos tolerantes. O aumento na WUE em genótipos de feijão tem sido descrita e ocorre em função da resposta fisiológica a condição de déficit hídrico (MUNOZ-PEREA et al., 2007; LANNA et al., 2016). A WUE descreve a relação entre a fixação de carbono e a perda de água na planta causada por causa da abertura dos estômatos para a assimilação do CO_2 (BRAMLEY; TURNER; SIDDIQUE, 2013).

Para o segundo componente principal, 19,3% da variação pode ser explicada e foi relacionada aos parâmetros taxa fotossintética, condutância estomática e taxa de transpiração (Figura 8). O déficit hídrico reduz à capacidade fotossintética, devido à diminuição da área foliar e ao fechamento estomático afetando a fixação de carbono pelo distúrbio da atividade enzimática das enzimas envolvidas na fotossíntese (FAROOQ et al., 2009). Pelos estômatos ocorre a perda de água e a absorção de CO_2 e o fechamento dos estômatos é uma das primeiras respostas ao déficit hídrico que resulta na redução de assimilação de carbono em favor da fotorrespiração (ANJUM et al., 2011). A diminuição da taxa de transpiração sob déficit hídrico ocorre devido ao declínio da condutância estomática que é controlada pelo aumento de ABA produzido nas raízes de plantas sob estresse e transportado para as folhas via xilema (LIU et al., 2004). Em relação a linearidade (R^2), as maiores correlações foram encontradas para a taxa de transpiração em relação taxa fotossintética (R^2=0,94) e taxa de transpiração em relação a condutância estomática (R^2=0,92) (Figura 9).

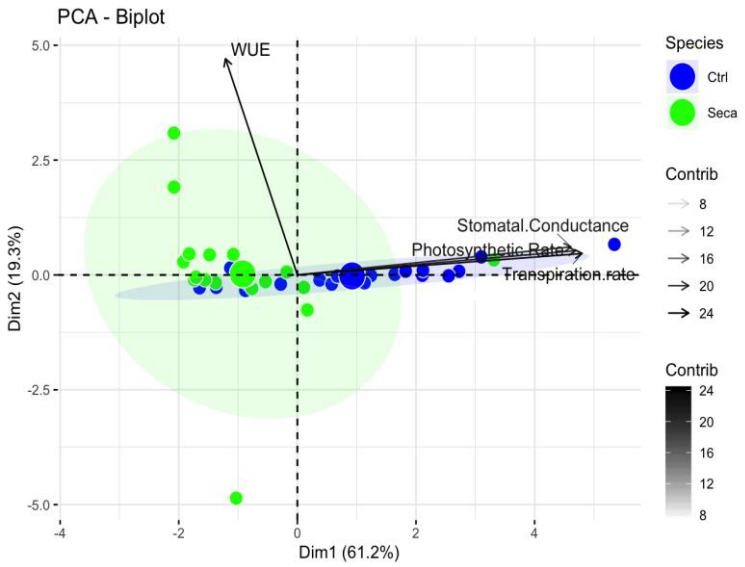


Figura 8. Análise de coordenadas principais dos parâmetros fisiológicos avaliados nos genótipos de Carioca sob déficit hídrico

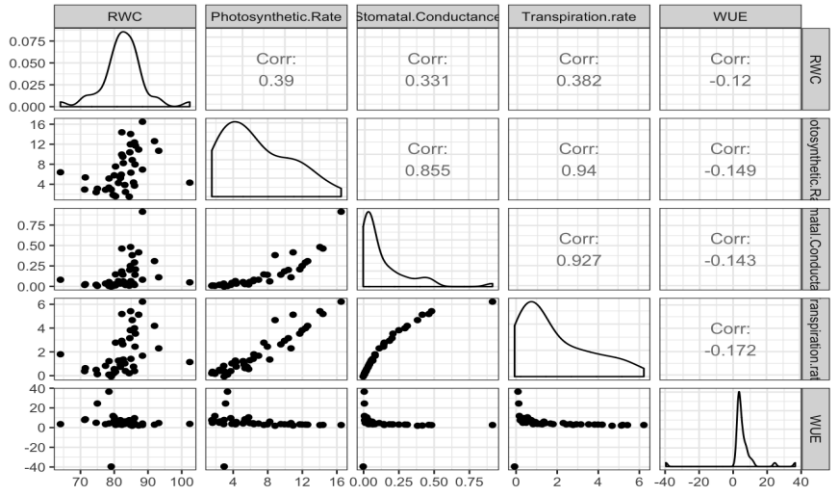


Figura 9. Correlação entre os parâmetros fisiológicos de plantas de feijão Carioca submetidas ao déficit hídrico

Parâmetros morfológicos foram determinados nos genótipos de Carioca tolerantes e susceptíveis ao déficit hídrico. A análise estatística multivariada de coordenadas principais foi executada, e o componente principal 1 foi responsável por 50.7% da variação observada e está relacionado a massa seca radicular (Figura 10). Sofi et al. (2008), observaram a redução da profundidade de raízes (14%), da biomassa radicular (29%), do comprimento radicular (35%), do volume (41%), da porcentagem de vagens (53%) e do peso de vagens (43%) em plantas de feijão sob déficit hídrico.

Em relação ao componente principal 2, a variação observada foi de 26,1% e está relacionada ao comprimento e densidade radicular (Figura 10). Berny et al. (2018), relataram o aumento do crescimento de raízes em profundidade sob condições de déficit hídrico, com plantas de feijão do tipo selvagem com raízes 60% mais profundas do que plantas domesticadas. Nossos resultados mostram que nos genótipos tolerantes Pinto saltillo, IAC Carioca 80 SH e IAC Imperador foram observados o aumento de crescimento de raízes em 36%, 65%, e 30%, respectivamente. Em relação á linearidade (R^2), a maior correlação foi encontrada entre comprimento e a densidade radicular (R^2=1) (Figura 11).

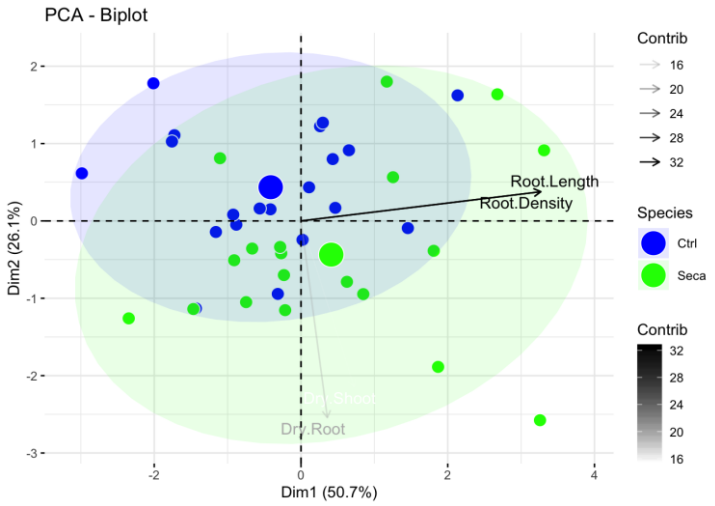


Figura 10. Análise de coordenadas principais (PCA) dos parâmetros morfológicos avaliados nos genótipos de Carioca sob déficit hídrico

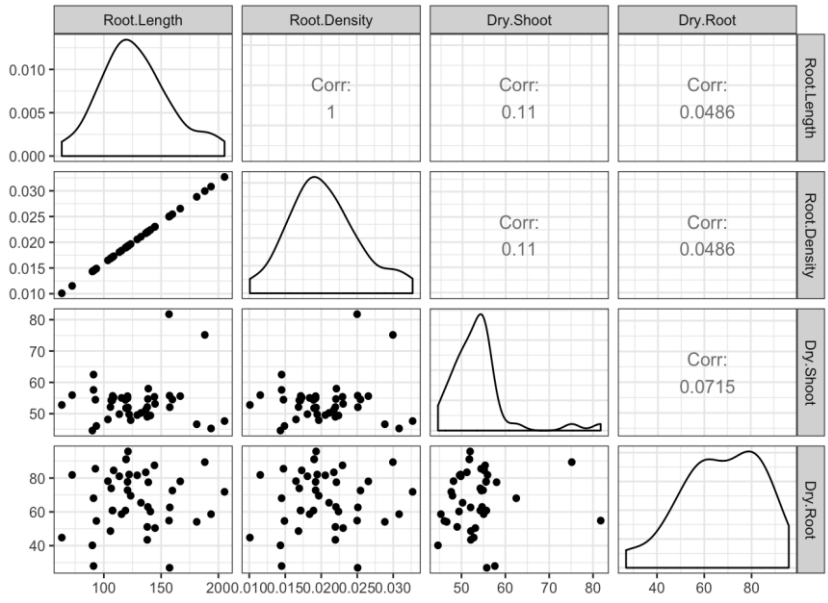


Figura 11. Correlação entre os parâmetros morfológicos de plantas de feijão Carioca submetidas ao déficit hídrico

4.3.2 Análise da expressão de 13 genes por RT-qPCR em raízes de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico

Além de análises morfo-fisiológicas para os quatro genótipos de Carioca e os dois genótipos referência para a tolerância ao déficit hídrico, foi realizada a análise do perfil da expressão de genes que são regulados no sistema radicular do feijoeiro sob estresse (LEE et al., 2003; GUO et al., 2011; RECCHIA et al., 2013; MANAVALAN et al., 2015; RECCHIA et al., 2018). No total, treze genes distribuídos nas seguintes categorias:

(i) Fatores de transcrição, (ii) transportadores de membrana (proteínas transportadoras de membrana, aquaporinas, etc), (iii) síntese de ABA, e (iv) ciclo celular (proliferação celular, expansão, controle do ciclo) foram quantificados em raízes de feijoeiro.

Em resposta ao déficit hídrico, ocorre a ativação de múltiplas vias regulatórias na célula que são responsáveis pela adaptação e sobrevivência da planta na condição de estresse. As fases de resposta a nível molecular incluem a percepção, a transdução do sinal (citoplasma-núcleo), alteração da expressão gênica e por fim, mudanças no metabolismo atreladas a aquisição de tolerância (AGARWAL et al., 2006).

Os fatores de transcrição (TFs) são proteínas que interagem com elementos *cis* na região promotora *upstream* dos genes alvo na molécula de DNA, e regulam a expressão gênica *downstream* de grande parte dos genes em resposta ao déficit hídrico de uma maneira sincronizada para conferir tolerância (RASHID et al., 2012; ROYCHOUDHURY; PAUL; BASU, 2013).

Os fatores de transcrição MYB, MYB-like 79, Hsp17, NAM e F-box foram quantificados em raízes de feijão Carioca tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico. Para o fator de transcrição MYB, a expressão gênica foi reprimida nas raízes dos genótipos tolerantes Pinto Saltillo (Figura 12), BAT477 (Figura 13) e IAC Imperador (Figura 15). Por outro lado, a expressão do gene MYB foi ativada nos genótipos IAC Carioca 80SH (Figura 14), IAC Alvorada (Figura 16) e Pérola (Figura 17). Proteínas MYB possuem função conhecida como um dos ativadores do sistema regulatório ABA-dependente e são sintetizadas após o acúmulo do ABA endógeno nas respostas posteriores ao estresse (FUJITA et al., 2005; VALLIYODAN; NGUYEN, 2006). A análise da função do gene MYB pela superexpressão em Arabidopsis, AtMYB2, resultou em um fenótipo com hipersensibilidade ao ABA e houve aumento da tolerância ao estresse osmótico em plantas transgênicas (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007; GAO et al., 2011).

Os fatores de transcrição MYB atuam na regulação da expressão de genes envolvidos no desenvolvimento, crescimento e na função de tipos celulares específicos (raízes, folhas, estômatos e flores) e na biossíntese de metabólitos (Componentes da parede celular, cutícula, suberina e flavonoides) (BALDONI et al., 2015). A expressão do fator de transcrição MYB-like 79 foi ativada em raízes dos genótipos Pinto Saltillo (Figura 12), BAT477 (Figura 13), IAC Carioca 80 SH (Figura 14) e IAC Alvorada (Figura 16). Para os genótipos IAC Imperador (Figura 15) e no Pérola foi observada a repressão da expressão do gene MYB-like 79 (Figura 17).

Outra classe de fatores de transcrição envolvidos na adaptação de plantas as condições de déficit hídrico, são as proteínas Heat Shock (Hsp). As Hsps são responsáveis pelo dobramento, translocação e degradação de proteínas em processos celulares normais, e sob condições de estresse atuam na estabilização de proteínas e membranas (WANG et al., 2004). Elas possuem um papel importante na proteção das plantas com o estresse reestabelecendo a conformação normal da proteína e contribuindo para a homeostase celular. Foi observado um aumento da expressão do gene *PvHsp17* para os genótipos Pinto Saltillo (Figura 12), BAT477 (Figura 13) e IAC Alvorada (Figura 16) sob déficit hídrico. Em relação aos genótipos IAC Imperador (Figura 15) e IAC Carioca 80SH (Figura 14), a expressão foi reprimida. Não houve amplificação do gene *PvHsp17* para o genótipo Pérola (Figura 17). Temel et al. (2017), observaram um aumento da expressão do gene *Hsp17* em plantas de cevada tolerantes ao déficit hídrico. Nossos dados revelam que a expressão do gene *Hsp17* nos genótipos de Carioca tolerantes ao déficit hídrico foi reprimida. No entanto, para os genótipos referência para a tolerância Pinto Saltillo e BAT477 a expressão do gene Hsp17 foi ativada.

Uma família de fatores de transcrição específica de plantas chamada NAC é composta pelos genes NAM, ATAF e CUC que apresentam domínio funcional N-terminal conservado e foram descritas como proteínas que atuam no desenvolvimento do meristema apical do caule (SOUER et al., 1996; AINDA et al., 1997), atuam na expansão celular em órgãos florais (SABLOWSKI; MEYEROWITZ, 1998) e formação de raízes laterais (dependente de auxina) no sistema radicular (XIE et al., 2000). Houve ativação da expressão do gene NAM em raízes dos genótipos referência para a tolerância ao déficit hídrico (Figuras 12 e 13). Em relação aos genótipos IAC Carioca 80 SH e IAC alvorada, foi observado aumento na expressão do gene NAM Figuras 15 e 16, respectivamente. Para o genótipo IAC imperador a repressão foi não-significativa (Figura 14) e para o genótipo Pérola não foi detectada a expressão (Figura 17). Hu et al. (2006), observaram que a superexpressão do gene *SNAC1* (STRESS-RESPONSIVE NAC 1) aumenta de forma significativa a tolerância ao déficit hídrico reforçando o papel dessa classe de fatores de transcrição aquisição de tolerância ao estresse.

Proteínas F-box estão envolvidas em vários aspectos do crescimento das plantas (VIERSTRA, 2003). Elas apresentam um domínio funcional SCF-like (TIR1) e atuam na percepção e controle de auxina e jasmonato nas plantas (RUEGGER et al., 1998). As proteínas F-box atuam na degradação de reguladores em resposta ao aumento de auxina e giberilina, bloqueando a ação de genes que induzem a síntese desses hormônios (GRAY et al., 2001). A expressão do gene F-box foi ativada em raízes dos genótipos tolerantes Pinto Saltillo (Figura 12), IAC Imperador (Figura 14) e IAC Carioca 80SH (Figura 15). Para os genótipos

BAT477, IAC Alvorada e Pérola não foi detectada a expressão Figuras 13, 16 e 17, respectivamente. Sob condições de estresse osmótico, foi observado um aumento da expressão do gene *PvFBS1*, que codifica para uma proteína F-box, em folhas de feijoeiro (MALDONADO-CALDERÓN et al., 2012).

O transporte de auxina é essencial para o crescimento e desenvolvimento normal da planta. Em plântulas, a auxina flui em uma única direção a partir de seus principais locais de síntese, como meristema apical e as folhas jovens em desenvolvimento indo em direção ao ápice das raízes através das células vasculares do parênquima (RASHOTTE et al., 2003). Do ápice radicular, a auxina é redistribuída para os tecidos periféricos da raíz (OKADA, et al., 1991). A nível celular, transportadores de membrana para o influxo e efluxo de auxina são responsáveis pelo controle do transporte direcional de auxina (BLAKESLEE, et al., 2005). Foi possível observar que houve repressão da expressão do gene transportador de auxina (TM) em raízes de genótipos referência para a tolerância ao déficit hídrico (Figuras 12 e 13) e para o genótipo IAC Alvorada sob déficit hídrico (Figura 16). Para os genótipos IAC Imperador (Figura 14) e Pérola (Figura 17), a expressão do gene TM foi ativada. Para o genótipo IAC Carioca 80SH não foi detectada a expressão do gene TM sob déficit hídrico (Figura 15). O ABA se acumula rapidamente nas raízes em resposta ao déficit hídrico (SENGUPTA et al., 2011). Rock e Sun (2005), relataram que pode haver interferência entre as vias de sinalização ABA e auxina para controlar o desenvolvimento radicular. O ABA pode desempenhar um papel na modulação da distribuição de auxina na zona de alongamento do ápice da raiz sob estresse hídrico (YAMAGUCHI; SHARP, 2010). O acúmulo de ABA modula o transporte de auxina no ápice da raiz, o que melhora a secreção de prótons para manter o crescimento radicular sob déficit hídrico moderado (XU et al., 2013).

Major intrinsic proteins (MIP), são aquaporinas que pertencem a uma superfamília de proteínas integrais de membrana com motivos altamente conservados em plantas e desempenham um papel fundamental no transporte de água e pequenas moléculas sem carga pela membrana plasmática (LUU; MAUREL, 2013). Regular o transporte de água é uma habilidade importante para as plantas que estão sob déficit hídrico, e o movimento de água transcelular é controlado pelas aquaporinas presentes nas membranas celulares (CHAUMONT et al., 2004). A análise da expressão gênica de aquaporinas em arabidopsis sugere que membros das sub-famílias *membrane intrinsic protein* (PIP) e *tonoplast intrinsic protein* (TIP) são regulados pelo déficit hídrico (ALEXANDERSSON et al., 2010).

Em plantas de feijão sob déficit hídrico, foi observado um aumento da expressão de aquaporinas tanto em folhas quanto em raízes de genótipos tolerantes (ARIANI; GEPTS, 2015). Recchia et al. (2018), observaram um aumento da expressão do gene *PvTIP* 3;1 em raízes do genótipo tolerante BAT477 sob déficit hídrico. O mesmo resultado foi observado em nosso experimento (Figura 13). Além do BAT477, houve aumento da expressão do gene *PvTIP* 3;1 (MIP aqua) em raízes dos genótipos Pérola (Figura 17) sob déficit hídrico. Para o genótipo IAC Alvorada a expressão do gene *PvTIP* 3;1 foi reprimida sob déficit hídrico (Figura 16). Para os demais genótipos avaliados neste estudo, não foi detectada a expressão do gene *PvTIP* 3;1.

Mechano sensitive Chanel (MS) são proteínas transmembrana sensíveis a estímulos mecânicos, tensão osmótica ou gravidade e invasão de patógenos em plantas (BASU; HASWELL, 2017). Proteínas MS tem sido associadas a proteção contra o estresse osmótico em plantas e ajudam a manter a homeostase sob condições de déficit hídrico (LEE et al., 2016). A expressão do gene MS foi reprimida nos genótipos Pinto Saltillo (Figura 12), IAC Alvorada (Figura 16) e Pérola (Figura 17) sob déficit hídrico. Para os genótipos BAT477 (Figura 13) e IAC Imperador (Figura 14) a expressão do gene MS aumentou nas raízes sob déficit hídrico. Não houve amplificação deste gene no genótipo IAC Carioca 80 SH (Figura 15).

Em resposta ao déficit hídrico ocorre o acúmulo de ABA no sistema radicular (BUCHANAN; GRUISSEN; RUSSELL, 2000). A enzima 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) participa de uma reção de clivagem de carotenoide dioxigenase para a biossíntese de ABA (IUCHI et al., 2001). Plantas transgênicas que expressam o gene NCED constitutivamente acumularam maiores quantidades de ABA em folhas e sementes em comparação com plantas do tipo selvagem (THOMPSON et al., 2000; IUCHI et al., 2001; QIN; ZEEVAART, 2002). Além disso, em resposta ao déficit hídrico foi observado que o gene *AtNCED3* é induzido em células do parênquima vascular em Arabidopsis (AKIRA et al., 2008). Nos genótipos tolerantes ao déficit hídrico Pinto Saltillo (Figura 12), BAT477 (Figura 13) e IAC Carioca 80SH (Figura 15) a expressão do gene NCED (Carotenóide oxigenase) foi reprimida. O aumento da expressão foi observado para os genótipos IAC Imperador (Figura 14), IAC Alvorada (Figura 16) e Pérola (Figura 17).

Em resposta ao déficit hídrico tem sido observado o aumento do crescimento das raízes em genótipos de feijão tolerantes (KONZEN et al., 2019). Na análise da expressão de genes por RNAseq em genótipos de feijão sob déficit hídrico foi observada a ativação da expressão de genes relacionados ao crescimento e proliferação celular em raízes (RECCHIA et al., 2018). Com base nessas informações, os genes Ciclina D7, PSK

(Fitosulfocina), Expansina A11 e Beta-expansina A-6 foram quantificados em raízes de feijão Carioca sob déficit hídrico.

A progressão da divisão celular em organismos Eucariotos é dirigida pela atividade de ciclinas-dependentes kinases (CDKs). As ciclinas do tipo D (CYCDs) são representadas por 10 genes em sete grupos em Arabidopsis, e estes, associados ao CDK do tipo A (CDKA), são responsáveis pela transição de células do G1 na fase S do ciclo celular mitótico através do canal canônico Via relacionada a RETINOBLASTOMA (RBR)-E2F (BONIOTTI; GUTIERREZ, 2001; GUTIERREZ et al., 2002). CDKA/CYCD quinases fosforilam RBR modulando a interação RBR com fatores de transcrição, incluindo aqueles envolvidos em progressão do ciclo, como E2Fs (MAGYAR et al., 2012) e promovem a transcrição de genes necessários para a Fase S (KUWABARA; GRUISSEM, 2014). Foi observado o aumento da expressão do gene CYCD7 em resposta ao déficit hídrico tanto nos genótipos referência para a tolerância ao deficit hídrico quanto para os genótipos de Carioca (Figuras 13-18).

A Fitosulfocina (PSK) pertence a um grupo de peptídeos vegetais sulfatados que são bioativados em concentrações nanomolares e foram classificados como fatores de crescimento em plantas (MATSUBAYASHI; SAKAGAMI, 1996; AMANO et al., 2007). Em mudas e Arabidopsis tratadas com PSK, houve aumento no crescimento de raízes em plantas do tipo selvagem expostas em comparação com mudas não tratadas, sugerindo que o PSK desencadeia a expansão celular durante o crescimento de órgãos na planta (AMANO et al., 2007). Para os genótipos Pinto Saltillo (Figura 12) e Pérola (Figura 17) o gene PSK foi reprimido nas raízes em resposta ao déficit hídrico. Foi observada a ativação da expressão do gene PSK em raízes dos genótipos BAT477 (Figura 13), IAC Imperador (Figura 14), IAC Carioca 80 SH (Figura 15) e IAC Alvorada (Figura 16).

Para o desenvolvimento radicular em plantas, é necessária a ação genes que controlam características morfológicas, o crescimento, o desenvolvimento, o metabolismo e processos fisiológicos (UGA et al., 2013; XU et al., 2014). As expasinas são proteínas encontradas no domínio de crescimento da raiz principal e raízes laterais, e elas são necessárias para o alongamento radicular (CHOI et al., 2003). O gene expansina de soja GmEXP1 foi ativado especificamente durante o processo de alongamento da raiz e, portanto, desempenha um papel importante no desenvolvimento da raiz (LEE et al., 2003). Foi demostrado que a superexpressão do gene GmEXP1 em plantas tranasgênicas de tabaco, melhorou o alongamento radicular em resposta a resistência a seca (LO et al., 2015). Um gene ortólogo em feijão (Expansina A11) referente ao gene GmEXP1 de soja, foi quantificado em raízes de feijão sob déficit hídrico. A expressão do gene Enpansina A11 foi ativada nos genótipos BAT477 (Figura 13) e Pérola

(Figura 17) e reprimida nos genótipos IAC Imprador (Figura 14) e IAC Alvorada (Figura 16). Para os genótipos Pinto Saltillo (Figura 12) e IAC Carioca 80 SH (Figura 15) não foi detectada a expressão deste gene.

Outro gene do grupo das expansinas foi quantificado em raízes de feijão sob déficit hídrico. O gene GmEXPB2 de soja do grupo β-expansina, foi ativado em resposta a seca e o seu mecansimo de ação está relacionado ao alongamento radicular para aumento da absorção de fósforo e mudanças de pressão osmótica (GUO et al., 2011; ZHOU et al., 2014). O gene ortólogo correspondente em feijão é a β-expansina A6, e foi observado aumento da expressão desse gene em raízes dos genótipos tolerantes ao déficit hídrico Pinto Saltillo (Figura 12) e IAC Imperador (Figura 14). Para os genótipos BAT477 (Figura 13), IAC Alvorada (Figura 16) e Pérola (Figura 17) a expressão do gene β-expansina A6 foi reprimida. Para o genótipo IAC Carioca 80 SH (Figura 15), não foi detectada a expressão deste gene.

O perfil da expressão gênica em raízes de genótipos de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico pode ser visualizado na Figura 18. A regulação da expressão gênica foi diferenciada nos genótipos de Carioca tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico, sendo observado um aumento da expressão de genes relacionados ao crecimento e proliferação nos genótipos de Carioca tolerantes.

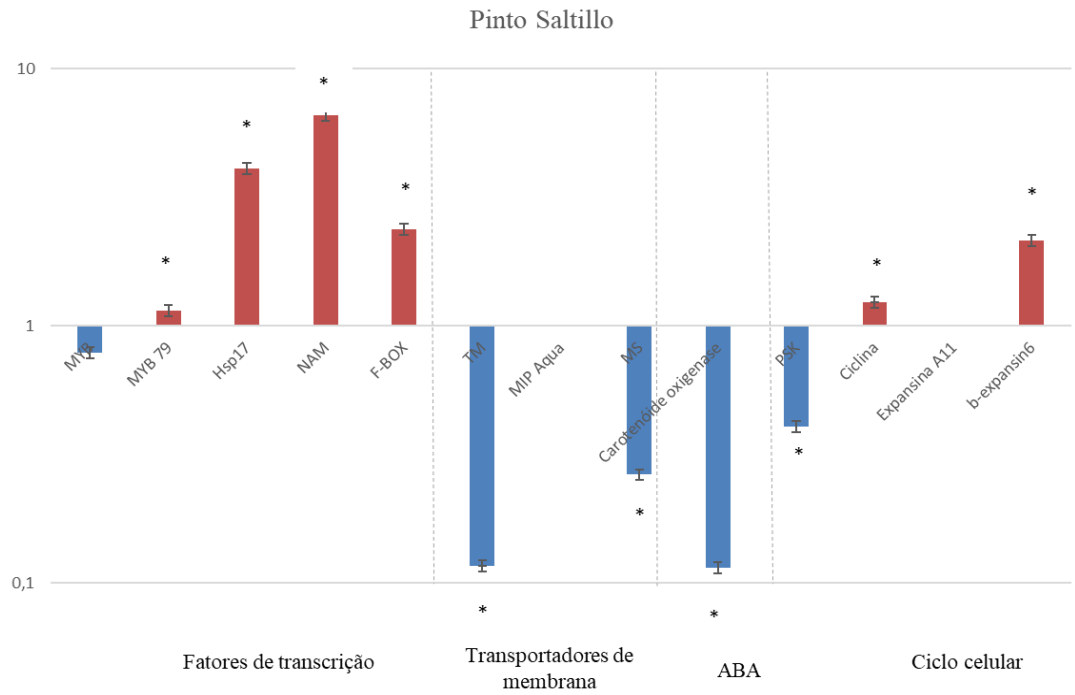


Figura 12. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo Pinto Saltillo sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05

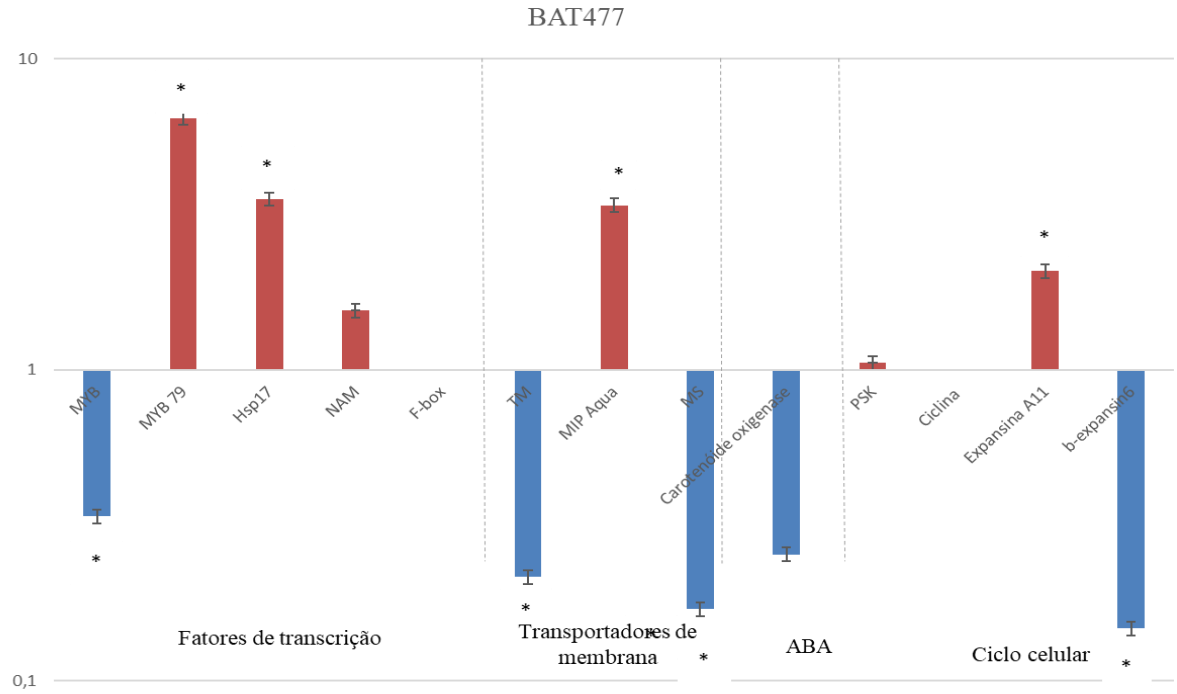


Figura 13. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo BAT477 sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05.

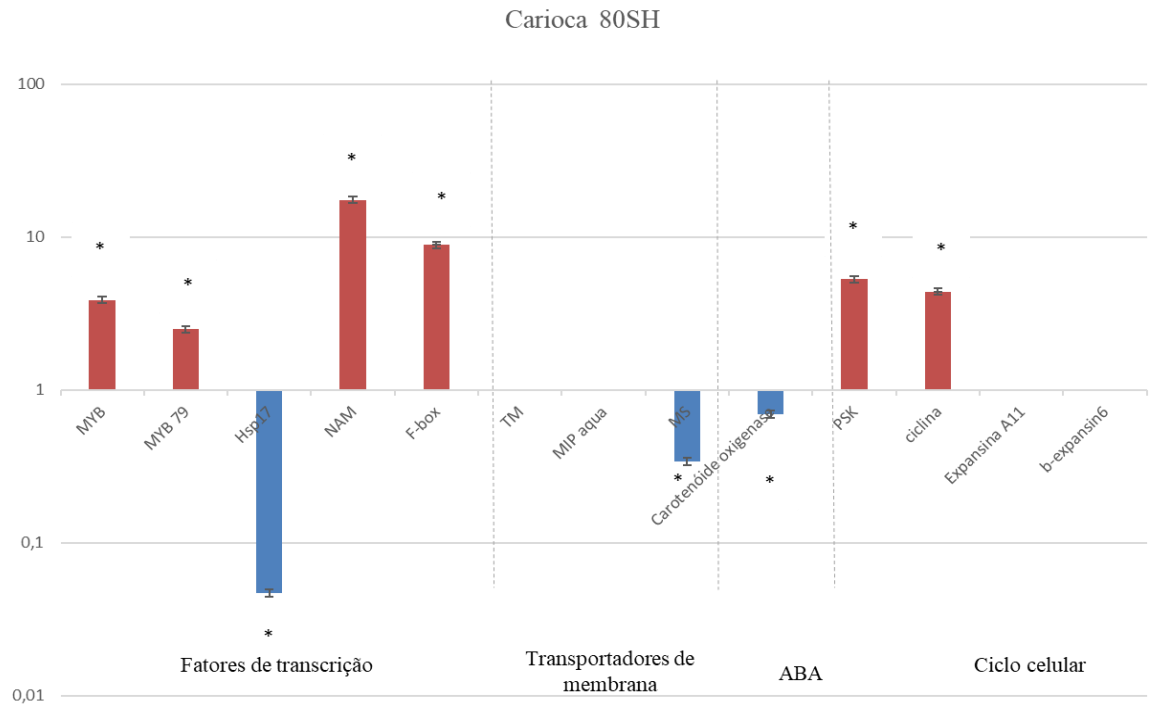


Figura 14. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo IAC Carioca 80 SH sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05.

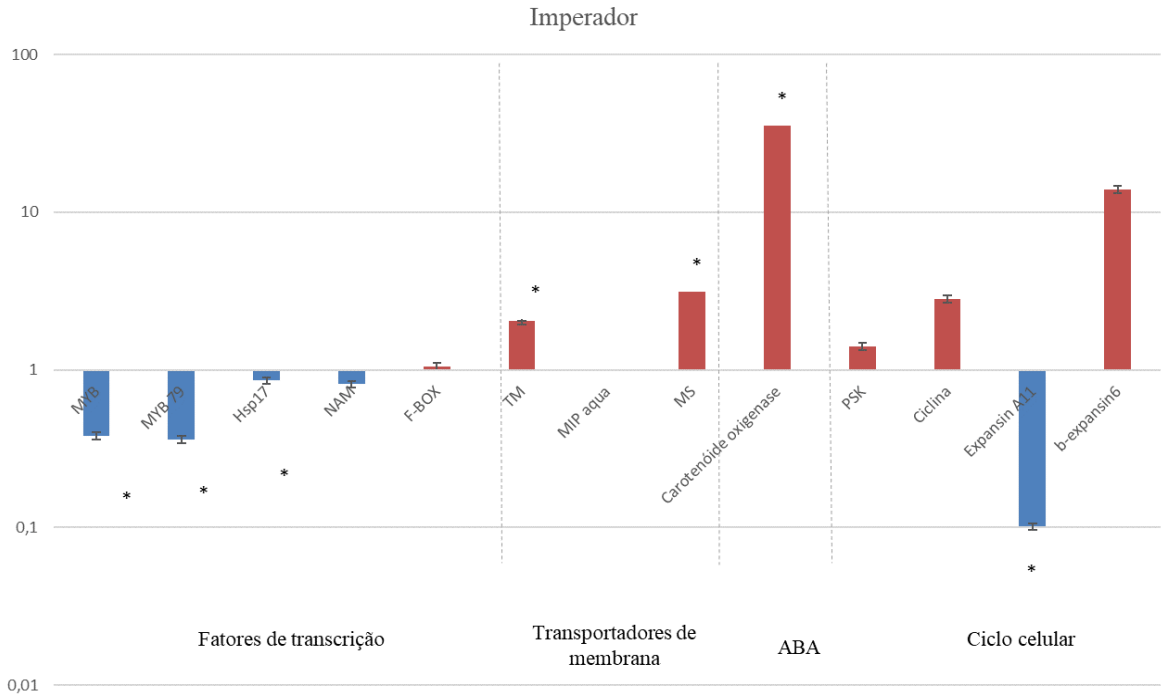


Figura 15. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo IAC Imperador sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05

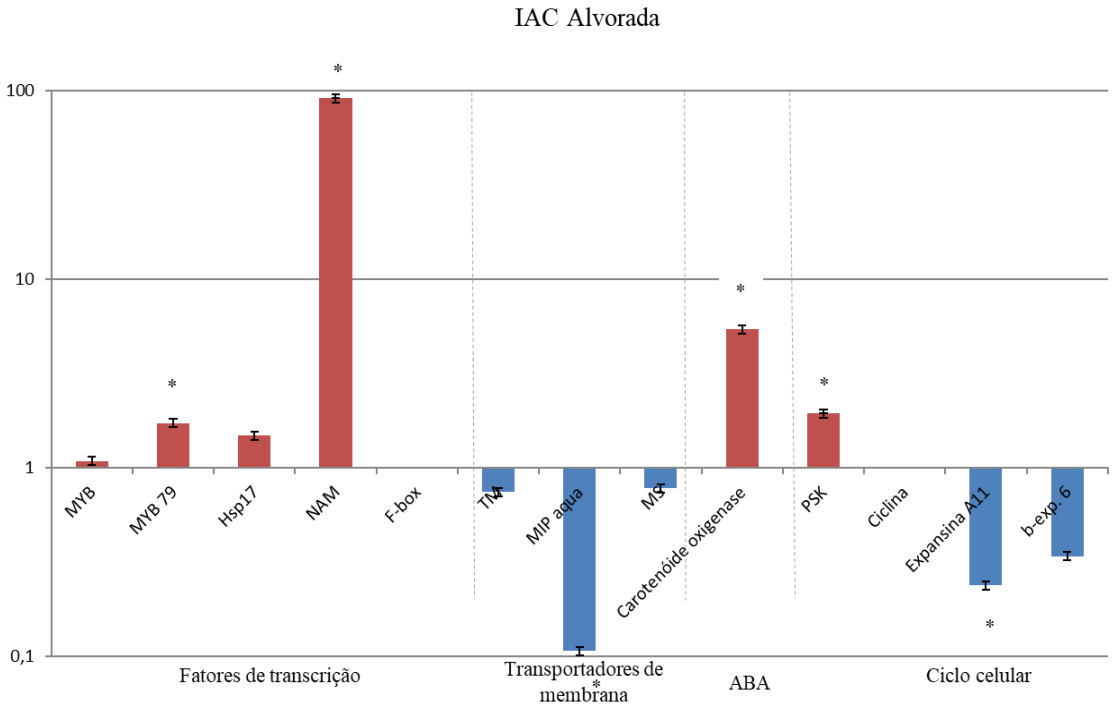


Figura 16. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo IAC Alvorada sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05

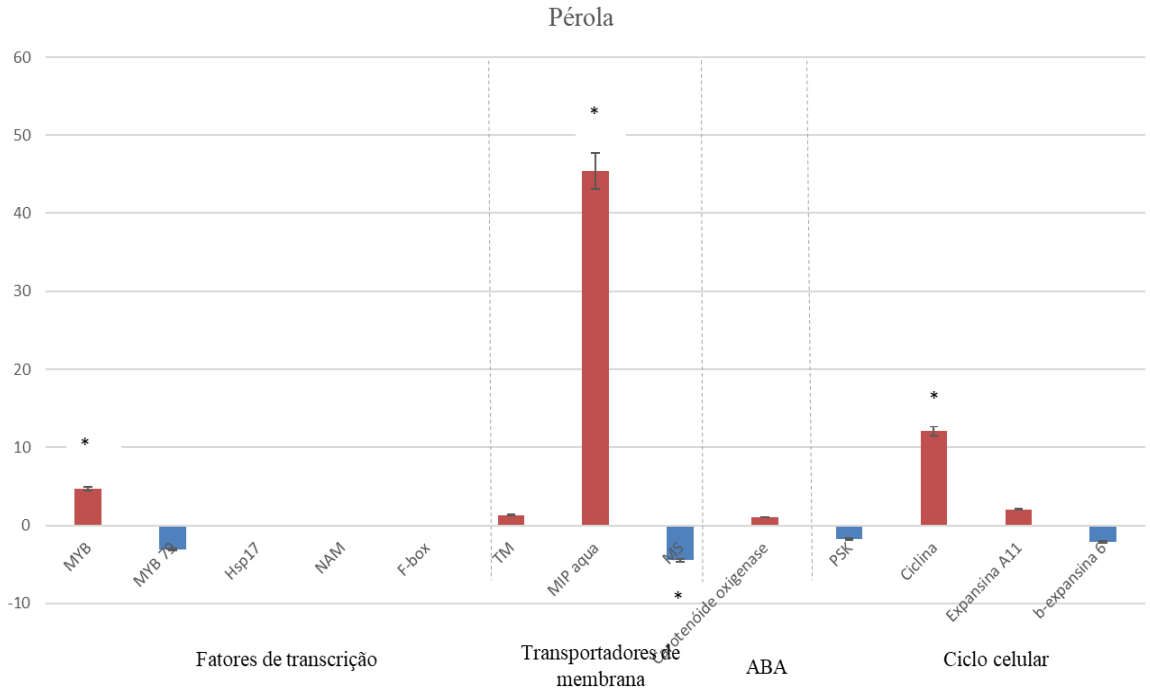


Figura 17. Análise da expressão relativa por RT-qPCR de 13 genes relacionados à tolerância a estresses abióticos em plantas. Expressão diferencial dos genes no genótipo Pérola sob déficit hídrico. * Diferença estatisticamente significativa p<0,05

	MYB	MYB79	Hsp17	NAM	F-box	TM	MIP aquaporina	MS	Carotenóide oxigenase	PSK	Ciclina	Expansina A11	b-exp. 6
Pinto Saltillo	Down	up	up	up	up	Down		Down	Down	Down	up		up
BAT477	Down	up	up	up		Down	up	up	Down	up		up	Down
Imperador	Down	Down	Down	Down	Down	up		up	up	up	up	Down	up
Carioca 80SH	up	up	Down	up	up				Down	up	up		
Alvorada	up	up	up	up		Down	Down	down	up	up		Down	Down
Pérola	up	Down				up	up	Down	up	Down	up	up	Down

Figura 18. Perfil da expressão gênica em raízes de genótipos de feijão Carioca submetidos ao déficit hídrico

4.4 Conclusões

Diante da exposição a estresses bióticos e abióticos, é necessário que a planta ative mecanismos de resposta a nível celular e molecular. A ativação da expressão de genes em diferentes vias metabólicas é fundamental para a aquisição de tolerância. Foi observada diferenças significativas entre parâmetros fisiológicos e morfológicos em genótipos de Carioca subtidos ao déficit hídrico. Na análise de componentes principais dos parâmetros fisiológicos em genótipos de feijão Carioca, 61,2% da variação observada pode ser explicada e esta relacionada a eficiência no uso da agua (WUE). Além disso, nos genótipos tolerantes ao déficit

hídrico Pinto saltillo, IAC Carioca 80 SH e IAC Imperador foram observados o aumento de crescimento de raízes em 36%, 65%, e 30%, respectivamente.

Para a análise da expressão gênica em raízes de genótipos de Carioca sob déficit hídrico, foram analisados genes em quatro categorias: (i) Fatores de transcrição, (ii) Transportadores de membrana, (iii) Síntese de ABA e (iv) Ciclo celular. A expressão gênica foi diferenciada entre os genótipos de Carioca suscetíveis e tolerantes ao déficit hídrico, destacando-se o aumento da expressão dos genes *PvCYCD7*, *PvPSK* e *PvNAM* nos genótipos de Carioca tolerantes ao déficit hídrico.

Referências

AIDA, M., ISHIDA, T., FUKAKI, H., FUJISAWA, H. & TASAKA, M. Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. **Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 841–857, 1997.

AGARWAL, P. K.; AGARWAL, P.; REDDY, M. K.; SOPORY, S. K. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 25, p. 1263–1274, 2006.

ALEXANDERSSON, E.; DANIELSON, J. A.; RADE, J.; MOPARTHI, V. K.; FONTES, M.; KJELLBOM, P.; JOHANSON, U. Transcriptional regulation of aquaporin sin accessions of *Arabidopsis* in response to drought stress. **The Plant Journal**, Oxford, v. 61, p. 650–660, 2010.

AMANO, Y.; TSUBOUCHI, H.; SHINOHARA, H.; OGAWA, M.; MATSUBAYASHI, Y. Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 104, p. 18333–18338, 2007.

ANJUM, S. A.; XIE, S.; WANG, L.; SALEEM, M. L.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal Agricultural Research**, Kenia, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

AKIRA, E.; YOSHIAKI, S.; HIROKAZU, T.; MASANORI, O.; KEIICHI, I.; ANAE, K.; MITSUNORI, S.; TOMONOBU, T.; WATARU, M.; KAZUO, S.; MIKIO, N.; UJI, K.; TOMOKAZU, K.; EIJI, N. Drought Induction of Arabidopsis 9-cis-Epoxycarotenoid Dioxygenase Occurs in Vascular Parenchyma Cells. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 147, n. 4, p. 1984-1993, 2008. doi: 10.1104/pp.108.116632.

ARIANI, A.; GEPTS, P. Genome-wide identification and characterization of aquaporin gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 290, p. 1771–1785, 2015. doi:10.1007/s00438-015-1038-2.

BALDONI, E.; GENGA, A.; COMINELLI, E. Plant MYB Transcription Factors: Their Role in Drought Response Mechanisms. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, p. 15811-15851, 2015. doi:10.3390/ijms160715811.

BARTELS, D. Targeting detoxification pathways: an efficient approach to obtain plants with multiple stress tolerance?. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 6, p. 284–286, 2001.

BASU, D.; HASWELL, E. S. Plant mechanosensitive ion channels: an ocean of possibilities. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 40, p. 43-48, 2017. doi: 10.1016/j.pbi.2017.07.002.

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

BERNY, C. J.; TERAN, Y. M.; KONZEN, E. R.; MEDINA, V.; PALKOVIC, A.; ARIANI, A.; TSAI, S. M.; GILBERT E. M.; GEPTS P. Root and shoot variation in relation to potential intermittent drought adaptation of Mesoamerican wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annals of Botany**, Oxford, v. 20, p. 1–16, 2018.

BLAKESLEE, J. J.; PEER, W. A.; MURPHY, A. S. Auxin transport. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 8, n. 5, p. 494–500, 2005. doi: 10.1016/j.pbi.2005.07.014.

BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation to adaptation. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v. 20, p. 135-148, 1996.

BONIOTTI, M. B.; GUTIERREZ, C. A. cell-cycle-regulated kinase activity phosphorylates plant retinoblastoma protein and contains, in Arabidopsis, a CDKA/cyclin D complex. **Plant Journal**, Oxford, v. 28, p. 341–350, 2001.

BRAMLEY, H.; TURNER, N. C.; SIDDIQUE, K. H. Water use efficiency. In: KOLE, C. (Ed.). **Genomics and breeding for climate-resilient crops**. Berlin: Springer, 2013. p. 225-268. doi: 10.1007/978-3-642-37048-9_6.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEN, W.; RUSSELL, L. J. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000.

CALVACHE, A. M.; REICHARDT, K.; MALAVOLTA, E.; BACCHI, O. O. S. Efeito da deficiência hídrica e da adubação nitrogenada na produtividade e na eficiência do uso de água em uma cultura do feijão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 3, p. 232-240, 1997. doi: 10.1590/S0103-90161997000200019.

CHAUMONT, F.; TYERMAN, S. D. Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 164, p. 1600–1618, 2014. doi: 10.1104/pp.113.233791.

CHOI, D.; LEE, Y.; CHO, H. T.; KENDE, H. Regulation of expansin gene expression affects growth and development in transgenic rice plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 1386–1398, 2003.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: Efects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Les Ulis, v. 29, p. 185–212, 2009.

FUJITA, Y.; FUJITA, M.; SATOH, R.; MARUYAMA, K.; PARVEZ, M. M.; SEKI, M.; HIRATSU, K.; OHME-TAKAGI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. **Plant Cell**, Rockville, v. 17, p. 3470–3488, 2005.

GAO, J. J.; ZHANG, Z.; PENG, R. H.; XIONG, A. S.; XU, J.; ZHU, B.; YAO, Q. H. Forced expression of Mdmyb10, a myb transcription factor gene from apple, enhances tolerance to osmotic stress in transgenic Arabidopsis. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 38, n. 1, p. 205–211, 2011.

GRAY, W. M.; KEPINSKI, S.; ROUSE, D.; LEYSER, O.; ESTELLE, M. Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins. **Nature**, London, v. 414, p. 271-276, 2001.

GUO, W.; ZHAO, J.; LI, X.; QIN, L.; YAN, X.; LIAO, H. A soybean b-expansin gene GmEXPB2 intrinsically involved in root system architecture responses to abiotic stresses. **The Plant Journal**, Oxford, v. 66, p. 541–552, 2011.

GUTIERREZ, C.; RAMIREZ-PARRA, E.; CASTELLANO, M. M.; DEL POZO, J. C. G (1) to S transition: more than a cell cycle engine switch. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 480–486, 2002.

HONGHONG, H.; MINGQIU, D.; JIALING, Y.; BENZE, X.; XIANGHUA, L.; QIFA Z.; LIZHONG, X. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 103, n. 35, p. 12987–12992, 2006.

HU, H.; DAI, M.; YAO, J.; XIAO, B.; LI, X.; ZHANG, Q.; XIONG, L. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 103, n. 35, p. 12987-12992, 2006. doi: 10.1073_pnas.0604882103.

IUCHI, S.; KOBAYASHI, M.; TAJI, T.; NARAMOTO, M.; SEKI, M.; KATO, T.; TABATA, S.; KAKUBARI, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in Arabidopsis. **Plant Journal**, Oxfprd, v. 27, p. 325–333, 2001.

KLEIN, M.; GEISLER, M.; SUH, S. J.; KOLUKISAOGLU, H. U.; AZEVEDO, L.; PLAZA, S.; CURTIS, M. D.; RICHTER, A.; WEDER, B.; SCHULZ, B.; MARTINOIA, E. Disruption of AtMRP4, a guard cell plasma membrane ABCC-type ABC transporter, leads to deregulation of stomatal opening and increased drought susceptibility. **Plant Journal**, Oxford, v. 39, p. 219-236, 2004.

KONZEN, E. R.; RECCHIA, G. H.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G.; BERNY, J. C.; GEPTS, P.; TSAI, S. M. DREB Genes from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) show broad to specific abiotic stress responses and distinct levels of nucleotide diversity. **International Journal of Genomics**, New York, art. ID 9520642, 28 p. 2019. doi: 10.1155/2019/9520642.

KUWABARA, A.; GRUISSEM, W. Arabidopsis Retinoblastoma-related and Polycomb group proteins: cooperation during plant cell differentiation and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, p. 2667–2676, 2014.

LANNA, A. C.; MITSUZONO, S. T.; TERRA, T. G. R.; VIANELLO, R. P.; CARVALHO, M. A. F. Physiological characterization of common bean (Phaseolus vulgaris L.) genotypes, water-stress induced with contrasting response towards drought. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 10, p. 1-6, 2016.

LEE, D. K.; AHN, J. H.; SONG, S. K.; CHOI, Y. D.; LEE, J. S. Expression of na expansin gene is correlated with root elongation in soybean. **Plant Physiology**, Lancastr, v. 131, p. 985–997, 2003.

LEE, C. P.; MAKSAEV, G.; JENSEN, G. S.; MURCHA, M. W.; WILSON, M. E.; FRICKER, M.; HELL, R.; HASWELL, E. S.; MILLAR, A. H.; SWEETLOVE, L. J. MSL1 is a mechanosensitive ion channel that dissipates mitochondrial membrane potential and maintains redox homeostasis in mitochondria during abiotic stress. **Plant Journal**, Oxford, v. 88, p. 809-825, 2016. doi:10.1111/tpj.13301.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Pod Set Related to photosynthetic rate and endogenous ABA in soybeans subjected to di_erent water regimes and exogenous ABA and BA at early reproductive stages. **Annals of Botany**, Oxford, v. 94, p. 405–411, 2004.

LO, T. S.; LE, H. D.; NGUYEN, V. T. T.; CHU, H. H.; LE, V. S.; CHU, H. M. Overexpression of a soybean expansin gene, *GmEXP1*, improves drought tolerance in transgenic tobacco. **Turkish Journal of Botany**, Ankara, v. 9, p. 988-995, 2015. doi: 10.3906/bot-1502-40.

MAUREL, C. Aquaporin Trafficking in Plant Cells: An Emerging Membrane-Protein Model. **Traffic**, Malden, v. 14, p. 629-635, 2013.

MATSUBAYASHI, Y.; SAKAGAMI, Y. Phytosulfokine, sulfated peptides that induce the proliferation of single mesophyll cells of *Asparagus officinalis*. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 93, p. 7623–7627, 1996.

MAGYAR, Z.; HORVATH, B.; KHAN, S.; MOHAMMED, B.; HENRIQUES, R.; DE VEYLDER, L.; BAKO, L.; SCHERES, B.; BOGRE, L. Arabidopsis E2FA stimulates proliferation and endocycle separately through RBR-bound and RBR-free complexes. **EMBO Journal**, Oxford, v. 31, p. 1480–1493, 2012.

MALDONADO-CALDERÓN, M. T.; SEPÚLVEDA-GARCÍA, E.; ROCHA-SOSA, M. Characterization of novel F-box proteins in plants induced by biotic and abiotic stress. **Plant Science**, Amsterdam, v. 185-186, p. 208–217, 2012. doi:10.1016/j.plantsci.2011.10.01.

MUNOZ-PEREA, C. G.; ALLEN, R. G.; WESTERMANN, D. T.; WRIGHT, J. L.; SINGH, S. P. Water use efficiency among dry bean landraces and cultivars in drought-stressed and non-stressed environments. **Euphytica**, Dordrecht, v. 155, p. 393-402, 2007.

OKADA, K.; UEDA, J.; KOMAKI, M. K.; BELL, C. J.; SHIMURA, Y. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 677–684, 1991.

QIN, X. Q.; ZEEVAART, J. A. D. Overexpression of a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in Nicotiana plumbaginifolia increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 128, p. 544–551, 2002.

RASHID, M.; GUANGYUAN, H.; GUANGXIAO, Y.; HUSSAIN, J.; XU, Y. AP2/ERF Transcription Factor in Rice: Genome-Wide Canvas and Syntenic Relationships between Monocots and Eudicots. **Evolutionary Bioinformatics Online**, Auckland, v. 8, p. 321-55, 2012.

RASHOTTE, A. M.; POUPART, J.; WADDELL, C. S.; MUDAY, G. K. Transport of the two natural auxins, indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid, in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 133, p. 761–772, 2003.

RECCHIA, G. H.; KONZEN, E. R.; CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M. Expression profile of genes underlying drought tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi symbiosis. In: PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 21., 2013, San Diego. Paris: INRA. International Grape Genome Program, 2013a.

RECCHIA, G.; CALDAS, D.; BERALDO, A.; DA SILVA, M.; TSAI, S. Transcriptional Analysis of Drought-Induced Genes in the Roots of a Tolerant Genotype of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, p. 7155-7179, 2013b.

RECCHIA, G. H.; KONZEN, E. R.; CASSIERI, F.; CALDAS, D. G. G., TSAI, S. M. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Leads to Differential Regulation of Drought-Responsive Genes in Tissue-Specific Root Cells of Common Bean. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, p. 1339, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.01339.

ROCK, C. D.; SUN, X. Crosstalk between ABA and auxin signaling pathways in roots of *Arabidopsis thaliana* (L.) heynh. **Planta**, Berlin, v. 222, p. 98–106, 2005.

ROYCHOUDHURY, A.; PAUL, S.; BASU, S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscísico acid-independent pathways during abiotic stress. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 32, p. 985–1006, 2013.

RUEGGER M, DEWEY E, GRAY W.M, HOBBIE L, TURNER J, ESTELLE M. The TIR1 protein of Arabidopsis functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p. **Genes and Development**, Cold Spring Harbor, v. 12, p. 198-207, 1998.

SABLOWSKI, R. W.; MEYEROWITZ, E. M. A homolog of NO APICAL MERISTEM is an immediate target of the floral homeotic genes APETALA3/PISTILLATA. **Cell**, Cambridge, v. 92, p. 93–103, 1998.

SENGUPTA, D.; KANNAN, M.; REDDY, A. R. A root proteomics-based insight reveals dynamic regulation of root proteins under progressive drought stress and recovery in *Vigna radiata* (L.) wilczek. **Planta**, Berlin, v. 233, p. 1111–1127, 2011.

SEKI, M.; KAMEI, A.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 14, p. 194–199, 2003.

SINGH, K.; FOLEY, R. C.; ONATE-SANCHEZ, L. Transcription factors in plant defense and stress responses. **Currunt Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 430–436, 2002.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SEKI, M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. **Currunt Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, p. 410–417, 2003.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 58, n. 2, p. 221–227, 2007.

SOFI, P. A.; DJANAGUIRAMAN, M.; SIDDIQUE, K. H. M.; PRASAD, P. V. V. Reproductive fitness in common bean (Phaseolus vulgaris L.) under drought stress is associated with root length and volume. **Indian Journal Plant Physiology**, New Delhi, v. 23, p. 796–809, 2008.

SOUER, E.; VAN HOUWELINGEN, A.; KLOOS, D.; MOL, J.; KOES, R. The no apical meristem gene of Petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. **Cell**, Cambridge, v. 85, p. 159–170, 1996.

STAIGER, D. RNA-binding proteins and cyrcadian rhythms in Arabidopsis thaliana. **Philosophical Transaction of the Royal Society. Biomolecular Biology Science**, London, v. 356, n. 1415, p. 1755–1759, 2001.

TAMURA, T.; HARA, K.; YAMAGUCHI, Y.; KOIZUMI, N.; SANO, H. Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 131, p. 454–462, 2003.

TEMEL, A.; JANACK, B.; HUMBECK, K. Drought Stress-Related Physiological Changes and Histone Modifications in Barley Primary Leaves at HSP17 Gene. **Agronomy,** New York, v. 7, n. 2, p. 43-58, 2017. doi: 10.3390/agronomy7020043.

THOMPSON, A. J.; JACKSON, A. C.; MULHOLLAND, B. J.; DADSWELL, A. R.; BLAKE, P. S.; SYMONDS, R. C.; BURBIDGE, A.; TAYLOR, I. B. Ectopic expression of a tomato 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes over-production of abscisic acid. **Plant Journal**, Oxford, v. 23, p. 363–374, 2000.

UGA, Y.; SUGIMOTO, K.; OGAWA, S.; RANE, J.; ISHITANI, M.; HARA, N.; KITOMI, Y.; INUKAI, Y.; ONO, K.; KANNO, N.; INOUE, H.; TAKEHISA, H.; MOTOYAMA, R.; NAGAMURA, Y.; WU, J.; MATSUMOTO, T.; TAKAI, T.; OKUNO, K.; YANO, M. Control of root system architecture by deeper rooting 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**, New York, v. 45, p. 1097–1102, 2013.

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H.T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **BMC Plant Biology**, London, v. 9, n. 2, p. 189–195, 2006.

VIERSTRA R. D. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 8, p. 135-142, 2003.

WANG, W.; VINOCUR, B.; SHOSEYOV, O.; ALTMAN, A. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 9, n. 5, p. 244–252, 2004. doi: 10.1016/j.tplants.2004.03.006.

WARD, J. M.; SCHROEDER, J. I. Calcium-Activated K+ Channels and Calcium-Induced Calcium Release by Slow Vacuolar Ion Channels in Guard Cell Vacuoles Implicated in the Control of Stomatal Closure. **Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 669–683, 1994.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Transcriptional regulatorynetworks in cellular responses and tolerance to dehydrationand cold stresses. **Annual Review Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 781–803, 2006.

YAMAGUCHI, M.; SHARP, R. E. Complexity and coordination of root growth at low water potentials: recent advances from transcriptomic and proteomic analyses. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, p. 590-603, 2010.

XIE, Q., FRUGIS, G., COLGAN, D. & CHUA, N. H. Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. Genes Development, v.14, p.3024–3036, 2000.

XU, W.; JIA, L.; SHI, W.; LIANG, J.; ZHOU, F.; LI, Q.; ZHANG, J. Abscisic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress. **New Phytologist**, London, v. 197, p. 139-150, 2013. doi:10.1111/nph.12004.

XU, P.; CAI, X. T.; WANG, Y.; XING, L.; CHEN, Q.; XIANG, C. B. HDG11 upregulates cell-wall-loosening protein genes to promote root elongation in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany,** Oxford, v. 65, p. 4285-4295, 2014.

ZHOU, J.; XIE, J.; LIAO, H.; WANG, X. Overexpression of β-expansin gene GmEXPB2 improves phosphorus efficiency in soybean. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 150, p. 194–204, 2014.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review in Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p.247–273, 2002.