

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITOS FISIOLÓGICOS DA PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS DE  
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) CONDICIONADO SOB DIFERENTES  
TENSÕES DE ÁGUA NO SOLO.**

**CLEBER JUNIOR JADOSKI**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da Unesp –  
Campus de Botucatu, para a obtenção de  
título de Mestre em Agronomia  
(Agricultura)

BOTUCATU-SP

Janeiro - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITOS FISIOLÓGICOS DA PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS DE  
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) CONDICIONADO SOB DIFERENTES  
TENSÕES DE ÁGUA NO SOLO.**

**CLEBER JUNIOR JADOSKI**

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Co-Orientador: Prof. Dr. Rogério Peres Soratto

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da Unesp –  
Campus de Botucatu, para a obtenção de  
título de Mestre em Agronomia  
(Agricultura)

BOTUCATU-SP

Janeiro - 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

J22e Jadoski, Cleber Junior, 1983-  
Efeitos fisiológicos da piraclostrobina em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) condicionado sob diferentes potenciais de água no solo / Cleber Junior Jadoski. - Botucatu : [s.n.], 2012  
x, 80 f., il., color., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012

Orientador: João Domingos Rodrigues  
Co-orientador: Rogério Peres Soratto  
Inclui bibliografia

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Enzimas. 3. CO<sub>2</sub>. 4. Fotossíntese. 5. Piraclostrobina. I. Rodrigues, João Domingos. II. Soratto, Rogério Peres. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITOS FISIOLÓGICOS DA PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS DE  
FEIJÃO SOB DIFERENTES TENSÕES DE ÁGUA NO SOLO"

ALUNO: CLEBER JUNIOR JADOSKI

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES  
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ROGÉRIO PERES SORATTO


Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES



PROF. DR. ELIZABETH ORIKA ONO



PROF. DR. DÚVAL DOURADO NETO

Data da Realização: 13 de janeiro de 2012.

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Faculdade de Ciências Agrônomicas, pela oportunidade e suporte para a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Agronomia (Agricultura), pela dedicação e qualidade de ensino.

Aos Prof. Dr. João Domigos Rodrigues, Profa. Dra. Elizabeth Orika Ono e Prof. Dr. Rogério Peres Soratto, pela orientação e amizade.

À Profa. Dra. Romy Goto, pelos seus conhecimentos e pela disposição do local onde se desenvolveu a pesquisa.

Ao funcionário José Geraldo Campos, pela amizade e colaboração em todos os momentos.

Ao prof. Antônio Evaldo Klar, pelo apoio na formação e pela amizade.

Aos meus pais, Orlei e Ilza e ao meu irmão, Sidnei, pelo incentivo e apoio nos momentos difíceis.

Aos colegas Essione Ribeiro, Claudiana Moura dos Santos, Guilherme Augusto Gotardi e Matheus Roel Almeida, pela ajuda prestada.

Aos meus amigos de Pós- graduação, pelo companheirismo de sempre.

E a todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desta pesquisa.

## SUMÁRIO

	página
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>1 RESUMO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 SUMMARY .....</b>	<b>13</b>
<b>3 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1 Feijão.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.1 Hábitos de crescimento e morfologia da planta de feijoeiro .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1.2 Períodos críticos à deficiência hídrica na cultura do feijoeiro.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Assimilação de CO<sub>2</sub>.....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Ação antioxidativa na célula vegetal .....</b>	<b>26</b>
<b>4.4 Principais propriedades das estrobilurinas e efeitos em culturas anuais....</b>	<b>28</b>
<b>4.4.1 Alterações hormonais .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4.2 Atraso da senescência .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4.3 Nitrato redutase .....</b>	<b>34</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1 Localização.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2 Semeadura e irrigação.....</b>	<b>37</b>
<b>5.3 Aplicação dos tratamentos, coleta de material vegetal e avaliações fotossintéticas.....</b>	<b>38</b>
<b>5.4 Senescência, massa seca e produtividade.....</b>	<b>38</b>
<b>5.5 Determinação enzimática .....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.1 Determinação da atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1) .....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.2 Determinação da catalase (CAT) (CAT, EC 1.11.1.6) .....</b>	<b>40</b>

5.5.3 Determinação da peroxidase (POD) (PODS, EC 1.11.1.7).....	40
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>6.1 Trocas gasosas .....</b>	<b>41</b>
<b>6.2 Análises enzimáticas .....</b>	<b>52</b>
<b>6.3 Senescência e produtividade.....</b>	<b>60</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>71</b>
<b>9 REFERÊNCIA .....</b>	<b>72</b>

## LISTA DE FIGURAS

	<b>páginas</b>
Figura 1 Atividade da superóxido dismutase ( <b>A</b> , SOD, EC 1.15.1.1), catalase ( <b>B</b> , CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase ( <b>C</b> , POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha <sup>-1</sup> ) na tensão de 10kPa, dois dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.....	<b>53</b>
Figura 2. Atividade da superóxido dismutase ( <b>A</b> , SOD, EC 1.15.1.1), catalase ( <b>B</b> , CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase ( <b>C</b> , POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha <sup>-1</sup> ) na tensão de 20kPa quatro dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.....	<b>54</b>
Figura 3. Atividade da superóxido dismutase ( <b>A</b> , SOD, EC 1.15.1.1), catalase ( <b>B</b> , CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase ( <b>C</b> , POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha <sup>-1</sup> ) na tensão de 30kPa, cinco dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.....	<b>55</b>
Figura 4. Atividade da superóxido dismutase ( <b>A</b> , SOD, EC 1.15.1.1), catalase ( <b>B</b> , CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase ( <b>C</b> , POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha <sup>-1</sup> ) na tensão de 40kPa sete dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.....	<b>57</b>
Figura 5. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que não receberam o tratamento de piraclostrobina.....	<b>61</b>
Figura 6. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de 0,05 L.ha <sup>-1</sup> .....	<b>62</b>

Figura 7. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de  $0,075 \text{ L.ha}^{-1}$ .....**63**

Figura 8. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de  $0,1 \text{ L.ha}^{-1}$ .....**63**

Figura 9. Produtividade de grãos ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ) em função dos tratamentos de deficiência hídrica (E) e de dose de piraclostrobina(D) onde TT-( $0 \text{ kPa}$  e  $0 \text{ l.ha}^{-1}$ ), E0(  $0 \text{ kPa}$ ), E1 ( $-20 \text{ kPa}$ ), E2 ( $-30 \text{ kPa}$ ), E3 ( $-40\text{kPa}$ ),D0 ( $0 \text{ l.ha}^{-1}$ ), D1 ( $0.05 \text{ l.ha}^{-1}$ ), D2( $0,075 \text{ l.ha}^{-1}$ ) e D3 ( $0,1 \text{ l.ha}^{-1}$ ).....**68**

## LISTA DE TABELAS

	<b>página</b>
Tabela 1. Características químicas do solo. São Manuel-SP, 2010.....	<b>37</b>
Tabela 2. Comparação das médias da taxa de assimilação líquida de CO <sub>2</sub> (A, μmol m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> ) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>42</b>
Tabela 3. Comparação das médias da atividade da enzima rubisco (A/Ci) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>43</b>
Tabela 4. Comparação das médias da condutância estomática(gs,mmol m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> ) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>43</b>
Tabela 5. Comparação das médias da transpiração (E, mmol.vapor d'água m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> ) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>44</b>
Tabela 6. Comparação das médias da eficiência do uso da água (EUA, μmol CO <sub>2</sub> (mmol H <sub>2</sub> O) <sup>-1</sup> em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>45</b>
Tabela 7. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 10kPa. São Manuel, SP, 2010.....	<b>48</b>
Tabela 8. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 20kPa. São Manuel, SP, 2010.....	<b>49</b>
Tabela 9. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 30kPa. São Manuel, SP, 2010.....	<b>50</b>

Tabela 10 Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 40kPa. São Manuel, SP, 2010.....	<b>51</b>
Tabela 11 Comparação das médias de superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>58</b>
Tabela 12. Comparação das médias de catalase (CAT, EC 1.11.1.6), em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>59</b>
Tabela 13. Comparação das médias de peroxidase (POD, EC 1.11.1.7), em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>59</b>
Tabela 14. Comparação das médias de senescência (64 DAE) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>64</b>
Tabela 15. Comparação das médias de senescência (79 DAE) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>64</b>
Tabela 16. Teste de Tukey para área foliar (cm <sup>2</sup> .planta <sup>-1</sup> ) para os tratamentos de estresse hídrico e doses de piraclostrobina no estágio R5. São Manuel, SP, 2010.....	<b>66</b>
TABELA 17- Comparação das médias massa de matéria seca (g.planta <sup>-1</sup> ) em plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.....	<b>67</b>

## 1 RESUMO

A deficiência hídrica destaca-se como um dos principais fatores limitantes na produção vegetal. A fotossíntese possui relação direta na produtividade das plantas e é um dos processos fisiológicos afetados pelo estresse hídrico. Há uma interação entre a cultura, elementos ambientais e manejo. Neste último, a aplicação de fungicidas vem apresentando resultados significativos nos processos metabólicos das plantas, além do controle de doenças. O fungicida piraclostrobina possui efeito verdejante, influências na regulação hormonal, assimilação de carbono e nitrogênio e retardo na senescência. Baseado nos efeitos fisiológicos que as estrobilurinas desenvolvem nas plantas, em função de seu modo de ação na fotossíntese; este trabalho teve por objetivo avaliar seus efeitos em plantas sob diferentes tensões de água no solo. O delineamento experimental utilizado parcelas subdivididas no esquema fatorial 4x4, quatro doses de piraclostrobina (zero, 0.050, 0.075 e 0.1 L.ha<sup>-1</sup>) e quatro tensões de água no solo (-10, -20, -30 e -40 kPa) em dois momentos, início da fase reprodutiva R5 e no início da fase de enchimento de grãos R7 na cultura do feijoeiro cultivar Carioca precoce (*Phaseolus vulgaris* L.) de crescimento determinado e ciclo médio de 70 a 90 dias. A semeadura ocorreu em canteiros de 2X5 m, na qual a população de plantas utilizada foi de 250.000 plantas.ha<sup>-1</sup> com espaçamento de 40 cm entre linhas e 12,5 sementes por metro. O

sistema de irrigação foi constituído de uma linha principal de onde saíam às fitas gotejadoras diretamente na linha de semeadura, na qual a irrigação era controlada por tensiômetros. Na primeira aplicação da piraclostrobina (R5) aplicou-se as tensões de irrigação e fizeram-se coletas de material para a determinação enzimática. Três dias após a aplicação da piraclostrobina em R7 avaliou-se as variáveis de trocas gasosas, taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), transpiração, condutância (E), concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) e foi estimada a atividade da Rubisco através da eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), com o uso do “Infra Red Gas Analyser” (IRGA), finalizando com a avaliação da área foliar. A aplicação de piraclostrobina na dose de 0,3L.ha<sup>-1</sup> nas plantas com deficiência hídrica -30kPa, fez com que a média fotossintética fosse maior em relação às demais tensões analisadas. Contudo, a dose de 0,2 L.ha<sup>-1</sup> propiciou maior atividade da enzima rubisco. As atividades enzimáticas no combate à ROS (espécies reativas de oxigênio), também aumentaram com a aplicação da piraclostrobina. Os maiores incrementos na produtividade foram dados pela dose de 0,075 L.ha<sup>-1</sup> dentro dos diferentes potenciais hídricos aplicados à cultura. Portanto, os resultados sugerem que a piraclostrobina auxilia as plantas na superação do estresse fotossintético e no estresse oxidativo, atuando na manutenção da produtividade das plantas quando houver deficiência hídrica no período produtivo.

PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF THE PYRACLOSTROBIN IN BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.) UNDER DIFFERENT POTENTIAL OF WATER IN THE SOIL. Botucatu, 2012. 82p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Agricultura)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: CLEBER JUNIOR JADOSKI

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

## 2 SUMMARY

The water deficit stands out as one of the major limiting factors in crop production. Photosynthesis has a direct relationship in the productivity of plants and is one of the physiological processes affected by water stress. There is an interaction between culture, environmental factors and management. In the latter application of fungicides has shown significant results in the metabolic processes of plants beyond the control of diseases. The fungicide pyraclostrobin has green effect, influences the hormonal regulation, carbon and nitrogen assimilation and delayed senescence. Based on the physiological effects that strobilurins develop in plants, due to its mode of action in photosynthesis; before that this work was to evaluate its effects on plants under water stress. The experimental design was split-plot factorial design in four doses of pyraclostrobin (zero, 0,050, 0,075 and 0.1 L.ha<sup>-1</sup>) and four soil water tensions (-10, -20, -30 and -40 kPa) in two stages, beginning of reproductive stage (R5) and during early grain filling stage R7 in the bean crop to cultivate early Carioca (*Phaseolus vulgaris*) Growth determined and average cycle of 70 to 90 days. Sowing occurred in beds of 2x5 m, where the plant population of 250,000 was used plants.ha<sup>-1</sup> with 40 cm spacing between rows and 12.5 seeds per meter. The irrigation system consisted of a main line to the left of where drip tape directly in the row in which irrigation was controlled by tensiometers. In the first application of pyraclostrobin (R5) was applied tensions irrigation where they were collecting material for the enzymatic determination. Three days after the application of pyraclostrobin in R7 was evaluated variables of gas exchange rate, net CO<sub>2</sub> assimilation (A), transpiration, conductance (E), internal CO<sub>2</sub> concentration (Ci), and

estimated the activity of Rubisco through the instantaneous carboxylation efficiency ( $A / C_i$ ), using the "Infra-Red Gas analysis" (IRGA), ending with the assessment of leaf area. The application of pyraclostrobin at a dose of  $0.3 \text{ L.ha}^{-1}$  deficiency in plants with water-30kPa, meant that the average photosynthesis was higher compared to other strains analyzed. However, the dose of  $0.2 \text{ L.ha}^{-1}$  resulted in higher activity of the enzyme rubisco. Enzyme activities in the fight against "ROS" (reactive oxygen species) also increased with the application of pyraclostrobin. The largest increases in productivity have been given by the dose of  $0.075 \text{ L.ha}^{-1}$  within the different water potentials applied to culture. Therefore, the results suggest that pyraclostrobin helps plants to overcome stress and photosynthetic oxidative stress, acting in the maintenance of plant productivity when water deficit in the productive period.

**KEY WORDS:** strobilurin; photosynthesis;  $\text{CO}_2$  assimilation; enzymes; water stress.

### 3 INTRODUÇÃO

No dia 31 de outubro de 2011 a população mundial chegou a sete bilhões de pessoas (UNFPA, 2011). De acordo com projeções populacionais, este valor continua a crescer a um ritmo sem precedentes. De acordo com a teoria neomalthusiana, uma população numerosa seria um obstáculo ao desenvolvimento e levaria ao esgotamento dos recursos naturais e a fome. Analisando a demanda de alimentos frente ao crescimento populacional deparamo-nos com o desafio de produzir comida em quantidade e qualidade.

Juntamente com o aumento da demanda de alimentos perante a crescente população, estão às mudanças climáticas, ocasionando prolongados períodos de estiagem, chuvas fora de época, tempestades, estações indefinidas, aumento de pragas e doenças, modificando abruptamente as condições regionais de cultivo, provocando queda na produção de alimentos.

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um produto agrícola de elevada expressão econômica e social. É considerado um alimento básico, constituindo-se na principal fonte de proteínas das classes de menor renda da população. É considerada uma cultura

sensível ao estresse hídrico, diminuindo substancialmente a produção em decorrência de deficiência hídrica no solo.

Os efeitos do estresse hídrico na cultura do feijoeiro vão além da quebra de produtividade. A deficiência hídrica na cultura provoca o aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam a degradação das membranas celulares; também a diminuição da área fotossinteticamente ativa, através da redução da área foliar; redução da assimilação de nitrogênio; o fechamento estomático e conseqüentemente redução da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e aumento do gasto de energia pela planta.

O termo estresse hídrico, geralmente, é definido como um fator externo, que exerce influência desvantajosa sobre a planta, este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável (TAIZ ; ZEIGER, 2009). O estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida e induz a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis, a princípio, mas pode se tornar permanente (LARCHER, 2006).

Na busca de amenizar a situação provocada pelo estresse, diversos estudos encontraram benefícios fisiológicos provocados por algumas moléculas de determinados fungicidas que até recentemente tinham como foco o controle de fitopatógenos. Destaca-se então a piraclostrobina, molécula pertencente ao grupo dos fungicidas denominados estrobilurinas (VENANCIO *et al.*, 2004).

Para Jabs (2004), essas moléculas proporcionam à planta melhor desenvolvimento, promovendo mudanças fisiológicas que permitem entre outras coisas, melhor utilização de CO<sub>2</sub>, incremento na atividade da enzima Nitrato-redutase, maior teor de clorofila e redução do estresse, associada à redução da produção de etileno, permitindo assim, maior duração da vida útil das folhas.

Esses fatos, somados a rentabilidade, permitem incrementos na produtividade da ordem de 3 a 6% para cada aplicação de estrobilurina (DUNNE, 2005). Para Navarini *et. al.*,(2005), esses incrementos variam de acordo com a suscetibilidade ao estresse de cada cultivar que quanto maior a suscetibilidade, maior o incremento.

O objetivo deste trabalho foi de verificar os efeitos da piraclostrobina na atividade fotossintética (assimilação de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração,

concentração interna de  $\text{CO}_2$  e etc.) assim como os efeitos na atividade de enzimas no combate às espécies reativas de oxigênio (ROS) e produtividade em plantas submetidas ao estresse hídrico.

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Feijoeiro

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira, por ser reconhecidamente uma excelente fonte protéica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e de ser rico em ferro. A produção nacional de feijão é flutuante devido à instabilidade climática, sendo o excesso e o déficit hídrico os fatores que mais afetam a cultura, reduzindo o potencial produtivo das lavouras.

Dentre os maiores produtores mundiais se destacam o Brasil com 17,3% da produção, seguido por Índia 16,4%, Myanmar 9,6%, China 6,7%, EUA 6,3 e México com 5,4%. (FAOSTAT, 2009).

Em 2010, a produção brasileira chegou a 3.345 mil toneladas, com produtividade média de 889kg.ha<sup>-1</sup> e, dentre as regiões produtoras, destacam-se o Sul com 33,9% da produção, Nordeste 24%, o Sudeste 25,2%, Centro-Oeste 13,3% e Norte 3,6% dentro dos estados produtores destaca-se o estado do Paraná com produção acima de 24% (CONAB 2010).

O gênero *Phaseolus* originou-se das Américas e possui cerca de 55 espécies das quais cinco são cultivadas: *P.vulgaris* L., *P.lunatus* L., *P. coccineus* L., *P.acutifolius* A. Gray var. *latifolius* Freeman e *P.polyanthus* Greenman (DEBOUCK,1993). Destas o feijão-comum *Phaseolus vulgaris*, é a mais importante, por ser a espécie cultivada mais antiga e, também, a mais utilizada nos cinco continentes.

Atualmente, relata-se que o feijão-comum teve dois centros principais de domesticação e um terceiro de menor expressão (GEPTS; DEBOUCK, 1993); o primeiro localiza-se na região central das Américas, principalmente no México, onde se originou a maioria das cultivares de grãos pequenos como o 'Carioca'. O segundo localiza-se no sul dos Andes, principalmente, no norte da Argentina e no sul do Peru, onde se originaram os cultivares de sementes grandes, semelhantes ao cultivar Jalo. A terceira área de domesticação, provavelmente intermediária entre as duas primeiras, situa-se na Colômbia, o que tem sido possível afirmar, depois de vários estudos feitos com faseolina, a principal proteína de reserva da semente do feijão.

Pode-se iniciar a identificação das partes da planta a partir do exame de uma semente pré-germinada em água ou areia umedecida. Dessa semente, pode-se remover com facilidade a sua película externa, o *tegumento*. A parte que resta é o *embrião*, que é constituído em sua maior parte por dois *cotilédones*, que funcionam como reserva de alimento para os primeiros dias após a germinação da semente. Os dois cotilédones estão presos a um eixo curto, cilíndrico e mais ou menos curvo do embrião. A parte do eixo que se situa acima do ponto de ligação dos cotilédones é o *epicótilo* e a parte de baixo, o *hipocótilo*. Na extremidade superior do epicótilo, encontram-se duas folhas em estágio embrionário, chamadas *plúmulas*. Durante a germinação da semente, a extremidade inferior do hipocótilo transforma-se na *radícula*, que cresce para o interior do solo e forma a *raiz principal*. A extremidade superior do hipocótilo e o epicótilo transformam-se no *caulículo*, que origina o *caule*, o qual se desenvolve acima do solo (GAVILANES, 1995).

A raiz principal ou primária cresce a partir da radícula, que tem origem no embrião. Logo em seguida, a partir da raiz primária, surgem as secundárias, situadas inicialmente próximo do colo. Com o desenvolvimento do sistema radicular, aparecem raízes secundárias abaixo das primárias e também terciárias a partir das secundárias. Ademais, os pelos absorventes estão sempre presentes nas proximidades das regiões de crescimento.

Podem ocorrer outras subdivisões, dependendo do sistema radicular, do cultivar e, principalmente, das condições ambientais, em especial da fertilidade, umidade e estrutura do solo. A origem das ramificações radiculares (raízes secundárias, terciárias etc.) é um processo endógeno, isto é, elas nascem a partir de um tecido chamado periciclo (CORTÉ, 1980). Em geral, a raiz primária possui maior diâmetro do que as demais, especialmente na fase jovem da planta.

A estrutura primária da raiz é simples e pode ser observada em sua parte tenra, apresentando da parte interna para a externa as seguintes camadas: epiderme com pelos radiculares absorventes, parênquima cortical, endoderme com estrias de Caspary, periciclo e tecidos vasculares (xilema e floema). O xilema apresenta-se, no seu conjunto, em forma de estrela com quatro pontas (raiz tetraarca), entre os quais situam-se os grupos de floema e de fibras. À medida que o crescimento secundário ocorre, o câmbio produz um corpo cilíndrico de xilema no centro da raiz e um anel de floema na periferia. Nesse caso, a epiderme desaparece e é substituída pela periderme (LEON, 1968).

Como em muitas leguminosas, na raiz do feijão existem nódulos com bactérias (*Rhizobium spp.*), quase esféricos e de tamanho variável. As bactérias que penetram pela extremidade de um pelo absorvente, reproduzem-se abundantemente e atingem o periciclo, onde é formada uma massa que se avoluma até constituir o nódulo. As bactérias que vivem nas células parenquimáticas dos nódulos recebem carboidratos da planta e a suprem de nitrogênio. Esta relação de simbiose permanece até a degenerescência do nódulo ou morte da planta.

Quanto à disposição do sistema radicular no solo, ele se assemelha ao sistema fasciculado, porque a raiz primária não é uma raiz pivotante típica, com a grande maioria nos primeiros 20 cm do solo, destes, 62 a 87% se situam nos 10cm superficiais (VIEIRA, 1967); em consequência, a planta explora essencialmente a camada superficial do solo, sendo por isso muito sensível à falta de umidade.

O caule é herbáceo, classificado morfológicamente como haste, e apresenta, na planta adulta, secção transversal cilíndrica e levemente angulosa (aristado), segundo Leon (1968). É constituído de nós e internódios intercalados, de número variável e dependente do hábito de crescimento da planta. Os fatores que mais influem no aspecto

vegetativo da planta de feijão relacionam-se ao maior ou menor desenvolvimento do caule e a intensidade de lignificação.

Os nós caulinares são numerados em sequência ascendente, sendo o primeiro nó aquele onde ocorre a inserção dos cotilédones, o segundo a inserção das folhas primárias e o terceiro a primeira folha trifoliolada.

A disposição das folhas no caule é chamada filotaxia. Cada folha origina-se de um nó e é geralmente alterna com predominância da disposição dística, isto é, folhas em duas fileiras com ângulo de divergência de  $180^\circ$ , com exceção das duas primeiras, que são opostas e ocorrem no segundo nó. Nas axilas das folhas nascem as gemas, que podem ser vegetativas, florais ou mistas. As gemas vegetativas originam os ramos, as florais as inflorescências e as mistas, podem originar tanto o ramo como a inflorescência.

O caule apresenta também pilosidade e colorações que variam em intensidade de acordo com a posição, o estágio de desenvolvimento da planta, o cultivar e as condições ambientais. Quanto à pilosidade pode ser classificada de subglabro a pubescente. Os pelos podem ser:

- a) simples, curtos ou longos ou ambos,
- b) e curtos em forma de gancho, observados com maior frequência nas partes mais jovens.

Algumas características do caule são utilizadas na identificação de cultivares, como a coloração, a pilosidade, o número de nós, o comprimento dos internódios, a filotaxia e os ângulos de inserção das diferentes partes da planta no caule (LEON, 1968).

#### **4.1.1 Hábitos de crescimento e morfologia da planta de feijoeiro**

A planta de feijão é constituída de uma haste principal, da qual partem ramos laterais que emergem das axilas das folhas. A disposição dos ramos primários e secundários depende da morfologia da planta em função do hábito de crescimento. Na haste principal e nos ramos estão os nós, dos quais emanam folhas trifoliadas, ramos e estruturas

florais. Os frutos denominados legumes ou vagens comportam normalmente de quatro a sete sementes (PORTES, 1996).

As cultivares de feijoeiro são classificadas, segundo o hábito de crescimento da planta, em determinado e indeterminado. De acordo com PORTES (1996), nas plantas de crescimento determinado as gemas apicais da haste principal e dos ramos laterais diferenciam-se, quase simultaneamente, em inflorescências ao entrarem na fase reprodutiva. Portanto, a partir do momento em que todas as gemas diferenciarem-se as plantas não produzem mais folhas nem flores novas, sendo que o aparecimento das flores dá-se do ápice para a base da planta. Em cultivares de hábito de crescimento indeterminado, os ráculos não se originam de gemas apicais, mas sim das gemas situadas nas axilas das folhas. Neste caso, as plantas continuam a produzir folhas e flores por um período mais prolongado comparado com as de crescimento determinado, sendo que a abertura das flores ocorre da base para o ápice da planta.

Considerando as características de crescimento determinado e indeterminado e outros caracteres morfológicos, VILHORDO et al. (1980) agrupam as cultivares de feijoeiro em tipos I, II, III e IV. Nesta classificação as cultivares do tipo I e II são de porte ereto, arbustivo e ramificação fechada, sendo a primeira de crescimento determinado e a segunda indeterminado. As cultivares do tipo III apresentam crescimento indeterminado com ramificação aberta e as do tipo IV são de crescimento indeterminado, prostrado ou trepador.

#### **4.1.2 Períodos críticos à deficiência hídrica na cultura do feijoeiro**

O estresse hídrico é considerado um dos fatores ambientais limitante ao crescimento e estabelecimento das plantas pelo mundo. Sabe-se que a inibição da fotossíntese é uma das primeiras consequências fisiológicas do estresse hídrico (CHAVES, 1991; CORNIC, 1994; LAWLOR, 1995), consequentemente relacionado com o fechamento estomático (YORDANOV et al., 2000).

Aasamaa & Söber (2011) descrevem como as influências dos estímulos metabólicos interagem de forma concorrente às influências hidráulicas das respostas estomáticas. Estes pesquisadores, trabalhando com uma espécie de angiosperma, demonstraram que quando os estômatos estão sujeitos às influências que se opõem ao metabolismo (mudanças de luz ou CO<sub>2</sub>) ou a alteração da umidade do solo (sinal hidráulico), este sobrepõe-se ao metabólico, ou seja, o estômato sofre maior influência da alteração da umidade do que da alteração de luz e CO<sub>2</sub>.

Examinando o comportamento desses estômatos, observa-se que possuem na planta a função de válvulas hidráulicas, respondendo somente a folhas hidratadas sob a luz (BRODRIBB; MCADAM, 2011). A prioridade hidráulica no controle de abertura e fechamento faz sentido, considerando a importância fundamental do fechamento estomático na prevenção da dessecação, o que pode ser letal à planta. Aasamaa & Söber (2011) mostram que esta característica é mantida através da filogenia vascular da planta, apesar da evolução adicionar outros componentes no programa de controle estomático.

A capacidade fotossintética e a fotossíntese são progressivamente reduzidas sobre condições de estresse hídrico e como consequência, a baixa intensidade luminosa é capaz de saturar a fotossíntese. Sobre estas condições, as plantas não podem usar toda a energia luminosa, aumentando assim, a susceptibilidade à fotoinibição (FLEXA; MENDRANO 2002).

Dias & Bruggemann (2010) estudando o efeito do estresse hídrico na fotossíntese de feijão (*Phaseolus vulgaris*) observaram que o fechamento estomático aconteceu durante severo déficit hídrico. No entanto a disponibilidade de CO<sub>2</sub> não foi afetada, logo, a limitação da assimilação de CO<sub>2</sub> em plantas com déficit hídrico pode ser relatada com o declínio da atividade enzimática envolvendo a imediata regeneração da ribulose 1,5-difosfato carboxilase (Rubisco)

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é considerado um dos mais importantes grãos para a alimentação humana. sendo cultivado em diversas partes do mundo. O feijoeiro é sensível a severas condições ambientais de estresse, como por exemplo, altas temperaturas e deficiência hídrica (PARRY et al., 2002)

O manejo da irrigação de uma cultura é dado segundo a resposta da cultura ao déficit hídrico. Cada fase da cultura responde diferentemente à falta de água, onde

determinadas fases são sensíveis, limitando a produtividade e o desenvolvimento e outras consideradas neutras.

Em 1970, Horner & Mojthehedí avaliaram plantas de feijoeiro submetidas ao déficit hídrico, constatando que quando o potencial hídrico do solo diminuía também diminuía a produção das plantas, chegando a reduções de 18 a 26% em relação a plantas não estressadas.

Braga et al. (1995) estudaram a influência de quatro frequências de irrigação em três estádios de desenvolvimento na distribuição das raízes das plantas de feijoeiro e observaram que há aumento da profundidade média das raízes, à medida que diminui a frequência de irrigação, fato este devido ao baixo potencial hídrico do solo, levando a planta a explorar um volume maior de solo tentando suprir suas necessidades hídricas.

Com relação aos períodos mais críticos à deficiência hídrica Chieppe (1998), caracterizou a fase de floração e desenvolvimento de vagem como sendo as mais limitantes para a produção do feijoeiro. Em outro estudo, Doorenbos & Pruitt (1976) constataram que o estresse hídrico aplicado nos períodos de floração e aparecimento de vagens, foram mais limitantes à produção do que o período de crescimento vegetativo e que por sua vez, foi mais limitante que o período de maturação das vagens.

Durante a fase vegetativa do desenvolvimento do feijoeiro, o déficit hídrico tem efeito indireto no rendimento de grãos pela redução da área foliar das plantas. Se o déficit ocorrer durante a floração, provoca abortamento e queda das flores, com redução do número de vagens por planta; se ocorrer no enchimento de grãos, prejudica a formação de sementes ou reduz seu peso (GUIMARÃES, 1988). Portes (1996) diz que a principal fonte de assimilados para a formação dos grãos é obtida durante o período de pós-florescimento e durante o crescimento das vagens.

Observa-se em muitas culturas que o rendimento de grãos depende da disponibilidade hídrica do solo após o momento da antese em relação ao total de água usado em todo o ciclo da cultura (KASELE et al., 1994). Jadoski (1994), observou que 15 dias de deficiência hídrica tanto no período de pré-floração como na floração, reduzem em média 20% o rendimento de grãos do feijoeiro pelo abortamento e abscisão de flores e enchimento inadequado dos grãos.

Hostalácio & Válio (1984) trabalhando com a cultivar Goiano Precoce, de ciclo curto e crescimento determinado, observaram que o período compreendido entre a pré e a plena floração foi o mais crítico à deficiência hídrica, reduzindo o rendimento da cultura de 25 à 35%.

#### **4.2 Assimilação de CO<sub>2</sub>**

A fotossíntese é o principal, senão o único, processo de fornecimento de carbono para o crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo apresentar variações inter e intraespecíficas (DORNHOFF & SHIBLES, 1980). Os fotoassimilados, oriundos da fotossíntese, são direcionados para o crescimento, sendo a partição para os órgãos reprodutivos um dos fatores determinante da produtividade de uma cultura.

A produtividade é influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como dreno. Toda a produção da biomassa depende da atividade fotossintética da fonte, mas a assimilação do CO<sub>2</sub> é apenas um dos fatores que influenciam o desenvolvimento vegetal (FOYER & GALTIER, 1996).

Os fotoassimilados constituem mais de 90% da massa seca da planta. Uma parte desses assimilados é utilizada durante o crescimento, convertendo-se em biomassa; a outra parte é oxidada na respiração e serve como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (POPOV et al., 2003). A análise de crescimento é baseada no fato de que aproximadamente 90% da matéria seca acumulada pelas plantas ao longo do seu crescimento é resultante da atividade fotossintética (CAÑIZARES et al., 2004)

As taxas metabólicas das plantas são influenciadas pelas condições ambientais, elas determinam as taxas e proporções da fotossíntese e da respiração (perdas e ganhos no balanço das trocas gasosas) e eventualmente, a produtividade biológica e econômica dessas plantas. A fotossíntese líquida é um indicador da taxa de assimilação do carbono (POPOV et al., 2003).

Por isso, torna-se cada vez mais importante estudar a fisiologia da fonte e uma maneira de compreendê-la é através das medidas de trocas gasosas. Vale ressaltar

que, em estudos visando a ganhos de produtividade, é importante buscar informações sobre a assimilação do CO<sub>2</sub>, assim como sobre a eficiência do uso da água durante essa assimilação (BRANDÃO FILHO et al., 2003).

A fotossíntese é um processo essencial à sobrevivência das plantas e para que seja ainda mais eficiente, elas desenvolvem vários mecanismos de foto resposta, como por exemplo, a movimentação dos cloroplastos para locais onde a intensidade de luz é apropriada e a abertura dos estômatos para absorver CO<sub>2</sub> (KAWAI et al., 2003).

Os poros estomáticos permitem a perda de vapor de água para a atmosfera durante a transpiração e a entrada de CO<sub>2</sub>, através da fixação fotossintética do carbono (VAVASSEUR & RAGHAVENDRA, 2005). Um rígido controle sobre a abertura estomática é essencial, para que não ocorra perda excessiva de água pela planta, ou que ela fique privada de CO<sub>2</sub>. Esse fino controle é atingido através de uma refinada sensibilidade das células-guarda para uma multidão de sinais ambientais e endógenos, incluindo luz, temperatura, umidade, CO<sub>2</sub> e quantidade de água na planta (ASSMANN & SHIMAZAKI, 1999).

### **4.3 Ação antioxidativa na célula vegetal.**

As plantas estão expostas aos desafios do ambiente como os estresses bióticos e abióticos tais como o déficit hídrico, salinidade, alta luminosidade e ataque de patógenos. A maioria desses estresses lançam efeitos adversos no crescimento e desenvolvimento das plantas por induzirem mudanças metabólicas, dentre as quais a ocorrência do estresse oxidativo (KARPISNKI et al., 1999). A deficiência hídrica e a salinidade, especialmente quando combinados com outros estresses, interrompem a fotossíntese e aumentam a fotorrespiração, alterando a homeostase normal das células e causando o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) como o superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), e radicais hidróxido (OH<sup>-</sup>), que são a causa da maioria dos danos às moléculas nas plantas, capazes de induzirem mudanças celulares, danos de membrana, oxidação de proteínas e alterações no DNA (HALLIWELL & GUTTERIDGE,

2000). Toda a vez que a planta se encontrar em condições anormais ela produzirá “ROS”(espécies reativas de oxigênio), durante o processo metabólico, via reações de Mehler nos cloroplastos, transporte de elétrons na mitocôndria e peroxissomos e fotorrespiração nos peroxissomos (ASADA, 1992; HERNÁNDEZ et al., 1993; DEL RÍO et al., 1998).

A deficiência hídrica causada pela seca ou pela salinidade do solo, é uma das mais sérias condições estressantes do ambiente que limita a produção agrícola em diversas regiões do mundo. Inúmeros estudos mostram claramente que a deficiência de água afeta a assimilação fotossintética do CO<sub>2</sub> e assim limitando o crescimento e a produtividade das plantas (FLEXAS et al., 2002; GALLE et al., 2009).

O fechamento estomático induzido pela deficiência hídrica mostra o início da forma proeminente da limitação de CO<sub>2</sub> para a assimilação, prejudicando a difusão de CO<sub>2</sub> da atmosfera para os sítios de carboxilação nos cloroplastos (GALLE et al., 2009) . Esta limitação na disponibilidade de CO<sub>2</sub> favorece a geração de O<sub>2</sub><sup>-</sup> nos cloroplastos (reação de Mehler) bem como a ativação da oxidase glicolato e geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (MITTLER E ZILINSKAS, 1994).

O estresse hídrico também pode causar prejuízos aos mecanismos de controle da captação de ferro nas raízes, acarretando no aumento da concentração de ferro nos cloroplastos. Superóxidos são produzidos nos cloroplastos sob condições de estresse, contudo, o estresse hídrico pode promover a geração de ferro –catalisado formando OH<sup>-</sup> que contribui no processo de deterioração em plantas estressadas por falta de água (PRICE; HENDRY, 1991).

Para lidar com a toxicidade da ROS, as plantas desenvolveram mecanismos antioxidativos eficientes, enzimáticos e não enzimáticos, envolvendo a supressão parcial e a limpeza de espécies reativas a oxigênio que já foram produzidos.

Os mecanismos não enzimáticos envolvem o baixo peso molecular dos antioxidantes (ascorbato, glutatona e  $\alpha$ -tocoferol) enquanto que o mecanismo enzimático antioxidante envolve a atividade da Superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11), peroxidase (PODS, EC 1.11.1.7), catalase (CAT; EC 1.11.1.6) e outras enzimas (NOCTOR; FOYER, 1998; ASADA, 1999).

Radicais superóxidos (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) são eliminados pela SOD, que é considerada a primeira linha de defesa contra O<sub>2</sub><sup>-</sup>; sua atividade resulta na formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

e  $O_2$ . O peróxido de hidrogênio é então transformado pela CAT nos peroxissomos e pela APX nos cloroplastos produzindo  $H_2O$  e  $O_2$ . Os sistemas antioxidantes desempenham um papel importante na proteção das plantas dos efeitos negativos dos mais variados tipos de estresse, como o salino e o estresse hídrico (FAVARETTO et al., 2011).

Os cloroplastos são especialmente sensíveis aos danos causados pelas ROS, porque os elétrons escapam da cadeia fotossintética de transferência de elétrons, sendo capazes de reagir com as altas concentrações de  $O_2$  dessa organela (FOYER et al., 1994) diminuindo assim a taxa fotossintética e afetando o crescimento da planta. Embora os cloroplastos possuam uma bateria de defesa antioxidante, este compartimento celular, é muito sensível às ROS extra-cloroplástico (ASADA, 1992). Assim o sistema antioxidante citosólico é muito importante na resposta ao estresse oxidativo induzido por diferentes distúrbios bióticos e abióticos (HERNANDEZ et al., 2004).

Embora as plantas não possuam defesa em movimentos livres, sabe-se que adaptações e alterações podem ocorrer no metabolismo das células, como a síntese de proteínas de defesa, expressada por genes específicos, ativando um mecanismo complexo (BUSAM et al., 1997; PINHEIRO et al., 1999) influenciando diretamente ou indiretamente a resistência da planta e consecutivamente a sua sobrevivência.

#### **4.4 Principais propriedades das estrobilurinas e efeitos em culturas anuais.**

No início dos anos 80, observou-se que o fungo *Strobilorus tenacellus*, habitantes de cones de *Pinus*, produzia uma substância que inibia o crescimento de outros fungos, substância esta pertencente ao grupo  $\beta$ - methoxyacrilatos, foi isolada e denominada estrobilurina A. Essa substância, juntamente com a oudemansina A, são substâncias mais simples desse grupo (KOLE et al., 1994; BARLETT et al., 2001). A ICI e a BASF foram as primeiras empresas a patentear os primeiros produtos sintéticos desse grupo em 1992, a

azoxistrobina e o kresoxim-methyl, respectivamente. Esses produtos começaram a ser comercializados em 1996 para controle de doenças em cereais (BARLET et al., 2001).

Depois disso, outros fungicidas dessa classe foram lançados: trifloxystrobina (Novartis), metominostrobin (Shionogi), piraclostrobina (BASF), picoxystrobina (Syngenta). A azoxistrobina e a picoxystrobina contêm o grupo methyl  $\beta$ -methoxyacrilato dos fungicidas naturais, enquanto os demais contêm *toxophores* (grupo de moléculas que levam o princípio venenoso) modificados (BARLET et al., 2001).

A interferência benéfica do fungicida piraclostrobina nos processos metabólicos de plantas, resultando em benefícios na produtividade foi estudado por Venâncio et al. (2004). Os autores apontam os efeitos fisiológicos desta molécula sob diversos níveis de complexidade, desde o efeito verdejante, frequentemente mencionado em avaliações de campo até as influências na regulação hormonal, assimilação de carbono e nitrogênio, retardo na senescência, estresse oxidativo em plantas e indução de resistência a vírus.

Harvey (2002) avaliou o efeito de fungicidas do grupo das estrobilurinas e triazóis no controle de Ramulária, constatando correlação não linear entre níveis de doença e produtividade de grãos, isto é, com baixos níveis de doença ocorreu maior influência no rendimento de grãos. O autor observou bom controle da doença tanto com altas quanto baixas doses de estrobilurinas (azoxistrobina; kresoxim methyl + epoxiconazol).

Para Tofoli (2002), além de ação fungicida, as moléculas de estrobilurinas atuam de forma positiva sobre a fisiologia das plantas, através de aumentos da atividade da enzima nitrato redutase, níveis de clorofila e da redução da produção de etileno. Tais efeitos contribuem diretamente para que as plantas sofram menor estresse no campo, assegurando maior qualidade e rendimento das colheitas.

Michael (2002), estudou os aspectos fisiológicos de estrobilurinas sobre plantas de trigo e cevada, as quais foram submetidas a três aplicações, com incremento no rendimento de grãos de 7% quando comparados com tratamentos à base de fungicidas azóis e azóis/morfolinas. Observou-se incremento de 19% na taxa fotossintética e de 15% na taxa de transporte de elétrons, além da melhora na eficiência de uso da água. Em simulação para condições estressantes, as plantas tratadas com estrobilurinas mostraram aumento na resistência contra estresse hídrico. Também se verificou redução de 40% na formação de etileno em plantas tratadas com estrobilurinas, quando comparadas com plantas tratadas com

azóis/morfolinas, sendo este processo bem documentado por determinação da atividade da DNase. Este efeito manifestou-se através da inibição da progressão da necrose comum de folhas na fase de enchimento de grãos.

Hershman et al. (2005), trabalhando com a cultura de soja, safra 2003, avaliaram pulverizações de azoxistrobina + lambda-cyhalothrim em aplicação única entre os estádios R3 e R6. Naquela safra foi estimado que aproximadamente 15.000 ha de soja foram tratados desta forma. Os autores correlacionaram o efeito verde da folhagem à aplicação do fungicida, indicando ser possível que as alterações fisiológicas sofridas pelas plantas de soja tenham promovido ganhos na produtividade.

Para Gerhard et al. (1999), além do efeito fungicida das estrobilurinas, também a sua influência positiva sobre a fisiologia e níveis de hormônios no desenvolvimento das plantas podem ser avaliadas em condições de campo. Essas avaliações permitem oferecer explicações para aumentos médios de 6% na produtividade. Os autores propõem um modelo para explicação das atividades bioreguladoras das estrobilurinas.

Outro fato importante que ocorre com as estrobilurinas é o denominado “*memory effect*” (efeito de memória) ou persistência do efeito mesmo na ausência do produto. Jabs (2004). comenta que aplicações precoces de kresoxim methyl resultaram neste efeito de persistência, fazendo com que as plantas condicionadas respondessem melhor ao estresse quando estes vierem a ocorrer.

Fagan (2007), estudando os efeitos fisiológicos da aplicação de fungicidas na cultura de soja, constatou que: "(i) o uso de piraclostrobina ocasiona alteração na atividade fisiológica das plantas e ocasiona acréscimo da produtividade de grãos; (ii) na variedade cultivada Monsoy-8008-RR, a estrobilurina piraclostrobina incrementa a taxa fotossintética, a atividade da enzima nitrato redutase e diminui a taxa respiratória. Também ocorre incremento na taxa de assimilação bruta de CO<sub>2</sub> e a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> nas vagens, aumento na massa de 1000 grãos e na produtividade de 13 e 4 sacas.ha<sup>-1</sup> em relação ao tratamento sem aplicação (efeito fungicida + efeito fisiológico) e ao tratamento com aplicação de tebuconazol (triazol) (efeito fisiológico), respectivamente; (iii) a aplicação da estrobilurina piraclostrobina na variedade cultivada BRS 245 RR aumenta o acúmulo do potencial de assimilação bruta de carbono na planta e nas vagens e a taxa de assimilação líquida, bem como aumenta a produção de fito massa seca e a produtividade de grãos em 18,5

*e 8,1 sacas.ha<sup>-1</sup> em relação ao tratamento sem aplicação e ao tratamento com aplicação de triazol, respectivamente; e (iv) no que se refere a curva de resposta do produto, a aplicação da estrobilurina piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética e a atividade da enzima nitrato redutase até 7 dias após a aplicação, com valores máximos aos 7 DAA para a fotossíntese e no dia da aplicação para a atividade da enzima nitrato redutase. Enquanto que para condutância estomática e para a transpiração, esse efeito ocorre até 3 dias após a aplicação, período de máximo efeito. O decréscimo na taxa respiratória é mantida até os 7 DAA, entretanto a biossíntese de etileno é inibida progressivamente até os 18 DAA."*

O mecanismo de ação dos fungicidas pertencentes ao grupo das estrobilurinas ocorre através da inibição da respiração mitocondrial no qual ocorre o bloqueio da transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, no sítio Qo, interferindo na produção de ATP.

O ciclo da Coenzima Q (CoQ) ocorre em duas etapas, na primeira, sua forma reduzida Ubiquinol (QH<sub>2</sub>) libera 2 H<sup>+</sup> e 1 elétron, que passa para o centro Ferro-Enxofre (Fe-S), gerando Semiquinona (Q<sup>-</sup>). Este elétron flui do Fe-S para o Citocromo c1, que o encaminha ao Complexo IV, através do Citocromo c solúvel. Q<sup>-</sup> transfere seu elétron para o citocromo b<sub>566</sub>, formando CoQ, que migra para o lado da MMI voltado para a matriz. O citocromo b<sub>566</sub> transfere o elétron para b<sub>560</sub> que, por sua vez, o devolve à coenzima Q, regenerando Q<sup>-</sup>.

Na segunda etapa uma nova molécula de QH<sub>2</sub> chega ao Complexo III, o mesmo processo ocorre até a liberação da CoQ. O elétron que permanece no Complexo III reage com a Q<sup>-</sup> (do ciclo anterior) e 2 H<sup>+</sup> da matriz, regenerando QH<sub>2</sub>. O ciclo ocorre na forma de dismutação, em que 2 moléculas de QH<sub>2</sub> são transformadas em Q e QH<sub>2</sub>, tendo Q<sup>-</sup> como intermediária. A CoQ existe em três formas: QH<sub>2</sub>, Q e Q<sup>-</sup>, sendo as duas primeiras solúveis (movem-se pela membrana) e a semiquinona (Q<sup>-</sup>) não lipossolúvel fica presa, próximo à fase aquosa da matriz (OLIVEIRA, 2005). Os inibidores de ubiquinona bloqueiam sua redução pelo Citocromo b nas duas etapas, impedindo desta forma esta reação (GUTIERREZ-CIRLOS; TRUMPOWER, 2002). A seletividade das estrobilurinas parece estar baseada sobre as diferenças estruturais de membranas celulares na penetração e degradação de fungos, vegetais e animais e não sobre as diferenças de sítios mitocondriais dos organismos alvos (VENÂNCIO et al., 1999 e SMITH, 2002).

Fungicidas à base de estrobilurinas afetam as variáveis fenométricas, fisiológicas e bioquímicas das culturas. Essa hipótese fundamenta-se em trabalhos realizados com trigo em que a aplicação de estrobilurinas ocasionou incremento da retenção foliar da planta e aumento na produtividade de grãos (BRYSON et al., 2000) e com feijão em que houve acréscimo de produtividade de até 97% (RAVA, 2002), entretanto, pouco se sabe sobre o efeito da estrobilurina na cultura do feijão, no que diz respeito à sua interação na taxa de assimilação de carbono e nitrogênio e conseqüentemente na produtividade e qualidade de grãos.

#### **4.4.1 Alterações hormonais.**

A estrobilurina kresoxim-metil inibe a síntese de etileno reduzindo a atividade de 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC)-sintase em tecidos de brotos de trigo (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997). A ACC-sintase é a principal enzima na biossíntese de etileno, a qual converte S-adenosilmetionina para ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (ABELES et al., 1992). Isso está relacionado ao atraso da senescência foliar, conseqüentemente, a uma prolongada atividade fotossintética dos tecidos verdes associada ao melhor manejo sob condições de estresse (KOHLE et al., 1997a; GROSSMANN; RETZLAFF, 1997; GROSSMANN et al., 1999 e VENÂNCIO et al., 2004).

O etileno é conhecido como sendo o hormônio primário da senescência de plantas a reações de estresse. O etileno pode ser produzido em quase todas as partes dos tecidos vegetais, em diferentes taxas de produção, dependendo do tipo de tecido e do estágio fenológico. As regiões mais ativas na produção de etileno são as regiões meristemáticas e as regiões dos nós. Durante a abscisão foliar, a senescência da flor e o amadurecimento dos frutos, a produção de etileno aumenta. Tanto o estresse biótico (pragas e doenças, principalmente) quanto o abiótico (inundação, por temperatura ou por estresse hídrico) induz a síntese de etileno (TAIZ, ZEIGER, 2009).

RODRIGUES (2009), em estudos de diferentes doses de estrobilurinas aplicados em trigo, verificou que a piraclostrobina altera a atividade da ACC-sintase bem como a síntese de etileno sob condições de estresse e senescência. (KOHLE et al., 2003).O

mesmo autor observou que folhas tratadas com piraclostrobina, que a massa de matéria fresca de brotos destacados diminuiu cerca de 6%, e a atividade da ACC-sintase aumentou 80 vezes em relação aos brotos intactos não estressados durante uma hora de deficiência hídrica. Observou ainda que a piraclostrobina inibiu a atividade da ACC-sintase e os níveis de ACC no tecido em até 63% a  $10^{-4}$  M. Por outro lado, a piraclostrobina na concentração de  $10^{-8}$  e  $10^{-4}$  M não alterou a atividade da ACC-sintase *in vivo* usando enzimas extraídas de brotos destacados e submetidos à deficiência hídrica, indicando que o fungicida pode inibir novamente a síntese de enzimas (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997 e VENÂNCIO et al., 2004).

#### 4.4.2 Atraso da senescência.

Quando as folhas são destacadas de uma planta, mesmo sendo mantidas úmidas e supridas de minerais, as mesmas perdem lentamente clorofila, RNA, lipídios e proteínas. Esse é o processo de senescência que leva a planta ou parte dela a morte (TAIZ, ZEIGER, 2009 ; VENÂNCIO et al., 2004).

O aumento da concentração de piraclostrobina inibiu a perda de clorofila em discos de folhas de trigo minimizando assim a senescência. Foi observado a  $10^{-4}$  M de piraclostrobina o máximo atraso na senescência foliar, com até 82% do maior nível de clorofila total em relação ao controle (GROSSMANN; RETZLAFF, 1977 e VENÂNCIO et al., 2004).

Em trigo, observou-se que a piraclostrobina degrada o precursor natural do ácido indol-3acético L-triptofano. Sendo isso, torna-se plausível a seguinte hipótese: O metabolismo da piraclostrobina aumenta os níveis endógenos de ácido indol acético (KOHLE et al., 2003; VENÂNCIO et al., 2004).

O atraso na senescência (folha) ocorre devido aos baixos níveis de etileno, os quais favorecem a produção por intermédio da maior formação de tecido vascular, partição de carboidratos, formação de broto floral e desenvolvimento de fruto (TAIZ e ZEIGER, 2009 e VENÂNCIO et al., 2004).

O atraso na senescência devido à utilização de doses crescentes de piraclostrobina apresentou alta correlação com níveis decrescentes de formação de etileno e de ACC e aumento de AIA. A forma mais comum de ocorrência natural de auxina fito-hormonal é ácido indol-3-acético (TAIZ, ZEIGER, 2009; VENÂNCIO et al., 2004).

#### **4.4.3 Nitrato redutase.**

Entre os principais elementos que compõe a biomassa vegetal está o nitrogênio. A energia e a estrutura molecular necessária para a incorporação do nitrogênio provêm do metabolismo dos carboidratos, o qual depende da fotossíntese, e essa, por sua vez, depende dos compostos contendo nitrogênio, como, por exemplo, a clorofila, criando assim um ciclo de interdependência (LARCHER, 2006).

Buchanan et al., (2000) relata que a assimilação de nitrogênio é o segundo maior processo metabólico nas plantas superiores, sendo superado pela fixação fotossintética do CO<sub>2</sub>. As plantas absorvem o nitrogênio do solo nas formas de nitrato e amônio, sendo que o nitrato é a principal forma de nitrogênio inorgânico disponível para as plantas, e sua absorção depende do pH na rizosfera, sendo que sob pH baixo, a absorção de nitrato é mais prejudicada que a de amônio.

A enzima nitrato redutase (NR) catalisa o primeiro passo enzimático da assimilação de nitrogênio pelas plantas superiores por meio da redução do nitrato (NO<sup>-3</sup>) a nitrito (NO<sup>-2</sup>) (OAKS, 1994; YANEVA et al., 2000).

Essa enzima (NR) é uma flavoproteína formada por duas subunidades idênticas, com três grupos – FAD, heme e um complexo constituído entre o molibdênio (Mo) e uma molécula orgânica a pterina (MENDEL; STALLMEYER, 1995; CAMPBELL, 1999), razão porque é, também, denominada uma molibdopterina.

A enzima NR está localizada, primariamente, no citossol das células corticais da epiderme da raiz e nas células mesofílicas da parte aérea (RUFTY et al., 1986; VAUGHN; CAMPBELL, 1988).

Uma vez absorvido pelas raízes das plantas o nitrato é reduzido a nitrito no citoplasma das células, pela enzima nitrato redutase (NR) e, em seguida, a amônio,

pela nitrito redutase (NRi), que usa a ferredoxina reduzida como doadora de elétrons (YANG & MIDMORE, 2005). Em seguida esse amônio é incorporado em moléculas orgânicas, como aminoácidos e nucleotídeos, por meio da ação conjunta das enzimas glutamina sintetase (COND) e glutamato sintase (GOGAT).

Os processos de redução e assimilação de N podem ocorrer nas folhas e/ou raízes, de maneira simultânea ou não entre esses órgãos, de acordo com a espécie (PATE, 1980) e com condições ambientais (COSTA, 1986). Recentemente a nitrato redutase tem sido considerada uma enzima chave na sinalização do óxido nítrico (NO) por produzir o nitrito, principal substrato para a síntese deste radical nos vegetais.

Foi constatado que o uso de fungicidas à base de estrobilurina na cultura do trigo ocasiona aumentos na atividade da enzima nitrato redutase (KAISER; BRENDLE-BEHNISCH, 1995) e diminuição na síntese de etileno (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997). Bryson et al. (2000) ainda ressaltam que estrobilurina incrementa a taxa fotossintética e diminui a respiração celular. Seu efeito é também correlacionado à maior tolerância da planta a estresses abióticos devido à sua ação no metabolismo do ácido abscísico e de enzimas antioxidantes (GROSSMANN et al., 1999).

Pelo aumento da atividade da NR, aumenta-se a síntese orgânica, rubisco, clorofila e hormônios acarretando assim no aumento da capacidade fotossintética das plantas.

## **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 Localização**

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de São Manuel da Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrônômicas, em São Manuel-SP, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude a 22°44'00" sul. longitude, 48°34'00", altitude de 740 m sobre o nível do mar. O clima é classificado como do tipo Mesotérmico Cwa, ou seja, subtropical úmido com estiagem no período do inverno, conforme o sistema internacional de Köppen (SETZER, 1946)

A análise química do solo foi realizado pelo Laboratório de Fertilidade do solo do Departamento de Recursos Naturais / Ciências do solo da Unesp Campus de Botucatu, e as características químicas na faixa de 0 a 20 cm de profundidade estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas do solo. São Manuel-SP, 2010.

pH	M.O	Presina	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	-----	-----	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	-----	-----	-----	-----
6,8	12	216		1,9	55,5	7	64	73	88
			<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>		
			-----	-----	mg dm <sup>-3</sup>	-----	----		
			0,20	1,7	16	7,2	8,3		

O delineamento experimental utilizado foi o de parcelas subdivididas no esquema fatorial 4X4 com três repetições, no qual testou-se quatro doses de piraclostrobina (zero, 0.050, 0.075 e 0.1 L.ha<sup>-1</sup>) e quatro de deficiência hídrica (-10, -20, -30 e -40 kPa) em dois momentos, início da fase reprodutiva R5, ou seja na abertura do primeiro botão floral e R7 no início da fase de enchimento de vagens.

Utilizou-se do Fungicida Comet<sup>R</sup> com 250g.L<sup>-1</sup> de piraclostrobina, fabricado pela BASF, sendo este um fungicida sistêmico do grupo químico das estrobilurinas sendo recomendado para a cultura do feijão no controle da Mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) para as três doenças recomenda-se a dose de 0.3L.ha<sup>-1</sup> do fungicida.

A variedade cultivada de feijão utilizada foi a Carioca Precoce, de crescimento determinado de porte prostrado, com ciclo médio de 70 a 90 dias, resistente ao mosaico-dourado e suscetível a doenças como Mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e ferrugem (*Uromyces appendiculatus*).

## 5.2 Semeadura e irrigação

A semeadura foi realizada no dia 22 de outubro de 2010, em estufa tipo túnel com 40m de comprimento por 7m de largura, em canteiros de 2X5m construídos transversalmente no interior da casa de vegetação, a população de plantas utilizada foi de 250.000 plantas.ha<sup>-1</sup> com o espaçamento de 40cm entre linhas e 12,5 sementes por metro

O sistema de irrigação utilizado foi a do tipo localizada, com o gotejo equidistante a 20 cm na linha de semeadura e incluindo uma linha principal de onde saíam às fitas gotejadoras de modo a deixar uniforme a distribuição de água no canteiro. O fluxo de água era controlado por pequenas torneiras no início de cada fita, podendo se assim interromper a irrigação do canteiro no momento previsto. Um conjunto de Tensiômetros foi instalado para quantificar o potencial hídrico do solo.

### **5.3 Aplicação dos tratamentos, coleta de material vegetal e avaliações fotossintéticas.**

A piraclostrobina foi aplicada via pulverização foliar utilizando-se um pulverizador de barras com pressão de CO<sub>2</sub> e bico do tipo leque (110-02).

A primeira aplicação da piraclostrobina foi em R5 e logo após iniciou-se o tratamento de estresse hídrico. Nesta fase fez-se coletas de material vegetal para a quantificação das enzimas superóxido dismutase, catalase, e peroxidase no final de cada nível de deficiência hídrica aplicada.

A segunda aplicação do produto aconteceu no momento em que as plantas estavam iniciando o estágio R7 (início do enchimento das vagens) após a aplicação dos respectivos estresses hídricos na cultura. Três dias após a aplicação da piraclostrobina avaliou-se as variáveis de trocas gasosas, taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), transpiração, condutância (E), concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), Transpiração e foi estimado a atividade da Rubisco através da eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), com o uso do “infra red gas analyser” (IRGA) e a área foliar.

As medidas foram calculadas a partir da diferença entre a concentração de CO<sub>2</sub> e vapor d'água do ar da referencia (valor presente na câmara sem folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO<sub>2</sub> que foram liberados (transpiração – vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO<sub>2</sub>) pelos estômatos das folhas.

### **5.4 Senescência, massa seca e produtividade**

Aos 64, 71 e 79 DAE fez se a contagem das folhas senescentes para caracterizar a ação da piraclostrobina e da deficiência hídrica na senescência das plantas.

Caracterizou-se as folhas senescentes quando esta apresentava-se em tom amarelado e seco. No final do ciclo realizou-se a obtenção da massa seca das plantas e produtividade.

A Produtividade foi estimada pela fórmula:

$$R = (P \cdot V_p \cdot G_v \cdot M)/1000$$

Onde:

R = produtividade de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>)

P = população de plantas (180 a 240 mil plantas há<sup>-1</sup>)

V<sub>p</sub> = n° de vagens planta

G<sub>v</sub> = n° de grãos vagem

M = massa de 100 grãos

## **5.5 Determinação enzimática.**

### **5.5.1 determinação da atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1)**

A determinação da atividade da SOD considera a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (Azul de Nitrotetrazólio Cloreto). A atividade foi determinada pela adição de 50 µL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 µM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7.8.

A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25°C. Após 8 minutos de incubação, o final da catálise foi determinada pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS & RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pelo incremento na absorção a 560 nm. Os tubos considerados brancos para a análise receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio, portanto, abrigados da luz. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima, considera-se a percentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra (µg / µL).

### **5.5.2 Determinação da catalase (CAT) (CAT, EC 1.11.1.6).**

Para a determinação da atividade da CAT, o sistema de reação por 80 segundos, foi composto de 50  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático, tampão fosfato de sódio  $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ , pH 7,0 e  $12,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , num volume final de  $1 \text{ mL}$ . Após leituras de absorbância a 240 nm, utilizou-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $39,4 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ) a atividade da enzima foi expressa em  $\text{nmol de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido}.\text{min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$  proteína (PEIXOTO et al, 1999).

### **5.5.3 Determinação da peroxidase (POD) (PODS, EC 1.11.1.7).**

A atividade da POD foi determinada de acordo com as condições citadas no trabalho de Teisseire e Guy (2000). O sistema de reação foi composto de 30  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático diluído (1:10 em tampão de extração); tampão fosfato de potássio  $50 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 6,5; pirogalol (1, 2, 3-benzenotriol)  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )  $5 \text{ mmol L}^{-1}$ , totalizando um volume de  $1,0 \text{ mL}$ . A reação foi conduzida a temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro UV-visível a 430nm e o seu coeficiente de extinção molar ( $2,5 \text{ nmol.L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi usado para calcular a atividade específica da enzima, expressa em  $\mu\text{mol de purpurogalina}.\text{min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$  de proteína.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Trocas gasosas.

Os dados estatísticos para a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> revelaram aumento nesta atividade em plantas nas quais foram tratadas com piraclostrobina, as dosagens de 0,05 e 0,075L.ha<sup>-1</sup> aumentaram efetivamente a taxa fotossintética, não prevalecendo este resultado para a dose de 0,1 L.ha<sup>-1</sup> (Tabela 2). Também foi verificado a diminuição da taxa quando o estresse hídrico aumentou.

A aplicação de 0,075L.ha<sup>-1</sup> da piraclostrobina fez com que a média de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> destas plantas fosse maior, principalmente quando a deficiência hídrica aplicada foi de -30 kPa. Da mesma forma, a dose de 0,05 L.ha<sup>-1</sup> também apresentou resultado positivo dentro da deficiência hídrica, principalmente no potencial hídrico de -40 kPa, sugere-se então que estas sejam as doses efetivas no combate ao estresse hídrico. Assim, esses resultados sugerem que a piraclostrobina auxilia as plantas na superação do estresse fotossintético quando ocorrer uma possível falta de água no período reprodutivo.

Grossmann e Retzlaff (1997) constataram que a piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética das plantas. Esses autores citam que o aumento na fotossíntese líquida está ligado às alterações no ponto de compensação de CO<sub>2</sub>, o que favorece a absorção de CO<sub>2</sub> em oposto à sua liberação pela respiração. Esse efeito pode ser explicado pela inibição transitória da respiração da planta quando tratada com fungicidas a base de estrobilurina. Rodrigues 2009, estudando o efeito fisiológico de diferentes fungicidas, também encontrou aumento na fotossíntese líquida de plantas de soja tratadas com a piraclostrobina.

Tabela 2. Comparação das médias da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol m}^2.\text{s}^{-1}$ ) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	30.80 Ab	25.84 Bd	35.20 Ba	28.56 Cc
	<b>-20</b>	24.15 Bc	25.93 Bb	33.50 Ca	22.16 Dd
	<b>-30</b>	22.33 Cc	25.23 Bb	37.60 Aa	20.90 Bd
	<b>-40</b>	31.70 Db	34.00 Aa	26.26 Dd	30.40 Ac
<b>cv%</b>		1.87			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey

A análise de variância na Tabela 3 revelou efeitos significativos dos tratamentos para a atividade da enzima rubisco. Assim como na taxa fotossintética as doses 0,05 e 0,75 L.ha<sup>-1</sup> também proporcionaram as melhores médias na atividade desta enzima em plantas submetidas à deficiência hídrica. Segundo Evans (1989), a limitação de nitrogênio em plantas C<sub>3</sub> é acompanhada pela diminuição da taxa fotossintética por unidade de área em folhas maduras, principalmente devido à redução considerável da partição de nitrogênio para a síntese de enzimas relacionadas com a fotossíntese, como é o caso da rubisco. Com referência ao processo de fixação de N<sub>2</sub> em leguminosas, sabe-se que ela é sensível à escassez de água durante sua etapa reprodutiva (ALBRECH et al., 1984; DURAND et al., 1987).

Tabela 3. Comparação das médias da atividade da enzima rubisco (A/Ci) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	0.13 Bb	0.09 Bc	0.22 Ba	0.14 Ab
	<b>-20</b>	0.10 Cc	0.15 Ab	0.29 Aa	0.11 Cc
	<b>-30</b>	0.10 Ca	0.09 Ba	0.11 Da	0.12 Ca
	<b>-40</b>	0.32 Aa	0.17 Ab	0.15 Cb	0.13 Bc
<b>cv%</b>		7.05			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey

As médias obtidas de condutância estomática variaram em resposta aos diferentes tratamentos nas quais a cultura fora submetida e oscilaram na faixa de 0,35 a 0,46 mol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> (Tabela 4). Em resposta ao estresse hídrico as plantas diminuíram a condutância estomática como forma de defesa. Os menores valores de condutância estomática foram encontrado na dose 0,075 L.ha<sup>-1</sup> com media de 0,20 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> quando submetido ao potencial hídrico de -30 kPa. Maiores médias foram verificadas na dose 0,05 L.ha<sup>-1</sup> de 0,78 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> quando a deficiência hídrica foi de -40 kPa.

Tabela 4. Comparação das médias da condutância estomática (gs,mmol m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	0.74 Aa	0.30 Dd	0.39 Bc	0.47 Cb
	<b>-20</b>	0.66 Ba	0.31 Cc	0.30 Cd	0.61 Bb
	<b>-30</b>	0.37 Cb	0.78 Aa	0.20 Dd	0.24 Dc
	<b>-40</b>	0.35 Dd	0.54 Bb	0.51 Ac	0.71 Aa
<b>cv%</b>		1.54			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey

Em face das variações da condutância estomática em resposta às doses de piraclostrobina nos diferentes potenciais hídricos submetidos e sabendo-se que os estômatos regulam as trocas gasosas foliares (SHIMAZAKI et al., 2007), espera-se que seja afetada a dinâmica de transpiração e assimilação de CO<sub>2</sub> das plantas.

As médias estatísticas de transpiração se encontram na Tabela 5. De modo geral, as maiores médias da transpiração encontraram-se nas plantas que não receberam a piraclostrobina. O fungicida fez diminuir a transpiração da cultura e entre as doses, dentre as quais, apresentou-se a maior média para 0,05 L.ha<sup>-1</sup> de 5.57 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Pode-se constatar efeito interativo entre a dose 0,05 L.ha<sup>-1</sup> e potencial hídrico -30 kPa onde a planta manteve-se com elevado valor de transpiração chegando a 8.46 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Porém como forma de defesa do vegetal sob estresse hídrico também ocorreu à diminuição da taxa transpiratória nas plantas que ficaram submetidas à deficiência hídrica. Sob falta de água as plantas aumentam a resistência cuticular que é uma importante característica morfológica de resistência à seca, porque permite maior conservação de água nas plantas com estômato fechado sob o estresse hídrico (PALLARDY; RHOADS, 1993).

Tabela 5. Comparação das médias da transpiração (E, mmol.vapor d'água m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	7.69 Ba	3.65 Cb	4.11 Ab	4.62 Bb
	<b>-20</b>	7.78 Ba	4.52 Cb	4.72 Ab	5.26 Bb
	<b>-30</b>	6.76 Bb	8.46 Aa	2.57 Bd	3.76 Cc
	<b>-40</b>	3.47 Ac	5.61 Bb	4.85 Ab	7.71 Aa
<b>cv%</b>		8.86			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

No requisito eficiência do uso da água (EUA) que é dada pela razão da eficiência fotossintética pela transpiração (A/E), as médias estatísticas (Tabela 6) aumentaram com a aplicação da piraclostrobina. O resultado fica evidenciado na análise de correlação, onde a eficiência de uso da água correlacionada com a transpiração interage de modo que com o aumento da transpiração há decréscimo da eficiência do uso da água (Tabelas 7, 8, 9 e 10).

Tabela 6. Comparação das médias da eficiência do uso da água (EUA,  $\mu\text{mol CO}_2(\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	4.00 Bc	7.12 Ab	8.56 Ba	6.19 Ab
	<b>-20</b>	3.10 Bc	5.79 Bb	7.10 Ba	4.21 Ab
	<b>-30</b>	3.30 Bb	2.98 Cb	14.67 Aa	5.56 Ab
	<b>-40</b>	11.29 Aa	6.05 Bb	5.41 Bb	3.94 Ab
<b>cv%</b>		28.81			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 0,05% pelo teste de Tukey.

Quanto à concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ), temos nas tabelas de correlação (Tabelas 7, 8, 9 e 10), que as variáveis de condutância estomática (gs) e concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) apresentaram correlação negativa em plantas que não receberam nenhum tratamento (testemunha), isto é, se o valor da condutância estomática aumenta, decrescem os valores de concentração interna de  $\text{CO}_2$ , porém não mais apresentando esta mesma resposta com a aplicação da piraclostrobina o que parece indicar que o decréscimo da taxa de fotossíntese líquida observado na Tabela 2 foi devido não só ao aumento da resistência estomática, mas também, ao efeito do estresse hídrico na fotossíntese das plantas não tratadas, visto que, um alto valor de  $C_i$  associado a baixas condutâncias estomática indicariam um decréscimo na eficiência de carboxilação (FARQUHAR; SHARKEY, 1982; HUTMACHER; KRIEG, 1983; SCHULZE, 1987; NI; PALLARDY 1992 ; LEIDI 1993).

Em plantas de algodão submetidas ao estresse hídrico, LEIDI (1993), não obteve uma relação linear entre condutância estomática e concentração interna de  $\text{CO}_2$ . Este autor concluiu que a ocorrência de valores aproximadamente constantes de  $C_i$  associados à baixa condutância estomática era um efeito do estresse hídrico sobre o aparelho fotossintético, possivelmente devido à redução na eficiência de carboxilação.

Pode-se conferir nas Tabelas 7, 8, 9 e 10, que com a piraclostrobina, obteve-se correlação positiva entre a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) e a relação  $C_i/\text{CO}_{2r}$ . Durante as trocas gasosas, os estômatos regulam a concentração subestomática de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ), mantendo o  $C_i$  relativamente constante (FARQUHAR; SHARKEY, 1982). Desse modo, o  $C_i$  reflete a disponibilidade de substrato para a fotossíntese, podendo indicar se o fechamento estomático está restringindo a atividade fotossintética.

As médias no estresse hídrico de -30 kPa apresentaram correlação positiva entre a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) e a relação  $C_i/\text{CO}_{2r}$  e também entre a atividade da rubisco e a eficiência do uso da água (Tabela 9), quando as plantas não foram submetidas à piraclostrobina. Sugerindo assim que neste nível de deficiência hídrica, as plantas ajustaram efetivamente a carboxilação com a quantidade de água disponível e esse efeito manteve-se após a reidratação.

Contudo ao nível de deficiência hídrica de -30 kPa nas plantas que receberam a dose de  $0,05 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$  as médias apresentaram correlação positiva entre a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) e a relação  $C_i/\text{CO}_{2r}$ , ocorrendo também a correlação negativa entre a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) e a atividade da rubisco concomitantemente à correlação negativa entre a relação  $C_i/\text{CO}_{2r}$  e a atividade da rubisco, ou seja, a enzima rubisco apresentou-se mais eficiente na captura de  $\text{CO}_2$  (Tabela 9).

Também para as plantas que receberam o potencial de -30 kPa e a dose de  $0,075 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ , os valores médios de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  correlacionaram positivamente com a transpiração e negativamente para a eficiência do uso da água; já a transpiração correlacionou-se de forma negativa à eficiência de uso da água. Assim aumentando-se a transpiração, aumenta-se o  $\text{CO}_2$  no meio, a enzima rubisco por estar mais eficiente não desperdiça este  $\text{CO}_2$  aumentando a taxa fotossintética da planta, diminuindo os efeitos do estresse hídrico na fotossíntese.

Porém se a planta aumentar a transpiração conseqüentemente diminuirá a eficiência do uso da água, e na Tabela 2 (Página 41), podemos verificar que a maior média da taxa fotossintética foi para o tratamento de  $0,0751 \text{ l.ha}^{-1}$  de piraclostrobina na tensão de  $-30 \text{ kPa}$ , mostrando assim, que ocorreu um ponto ótimo no equilíbrio entre a transpiração e a eficiência de uso da água juntamente com a fotossíntese.

Nos dados de correlação entre a transpiração (E) e a relação  $C_i/\text{CO}_2r$  foi positiva quando o estresse aplicado foi de  $-20 \text{ kPa}$  para a dose de piraclostrobina de  $0,1 \text{ l.ha}^{-1}$  (Tabela 8), há também correlação positiva entre a fotossíntese e a eficiência de uso da água (A/E) e correlação negativa entre a transpiração e a relação  $C_i/\text{CO}_2r$  para a eficiência do uso da água. A assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  também correlacionou-se de forma negativa com a transpiração e obteve correlação positiva com a eficiência de uso da água e com a atividade da enzima rubisco.

A transpiração correlacionou-se de forma negativa com a eficiência de uso da água (Tabela 10). Dados parecidos, porém não estatisticamente significativos encontram-se para todos os tratamentos de deficiência hídrica, sugerindo assim, que o estresse ocasionado foi momentâneo, não desbalanceando os processos fisiológicos da planta, apenas os efeitos dos processos é que foram prejudicados.

Tabela 7. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estádio R7) referentes á tensão de 10kPa. São Manuel, SP, 2010.

	L.ha <sup>-1</sup>	gs	Ci	E	Ci/Co2r	A/Ci	EUA	A/gs
A	0	-0.796	0.789	-0.0835	0.401	0.742	0.898	0.996
gs	0		-1.000**	-0.536	-0.874	-0.185	-0.45	-0.849
Ci	0			0.546	0.879	0.174	0.439	0.843
E	0				0.879	-0.73	-0.513	0.00891
Ci/Co2r	0					-0.317	-0.0419	0.484
A/Ci	0						0.961	0.677
EUA	0							0.854
A	0,05	-0.308	-0.419	-0.946	-0.389	0.533	0.951	0.472
gs	0,05		0.993	0.601	0.996	-0.969	-0.587	-0.984
Ci	0,05			0.692	0.999*	-0.992	-0.679	-0.998*
E	0,05				0.668	-0.779	-1.000*	-0.734
Ci/Co2r	0,05					-0.987	-0.655	-0.996
A/Ci	0,05						0.768	0.998*
EUA	0,05							0.721
A	0,075	-0.5	-0.991	-0.961	-0.991	0.998*	0.977	0.928
gs	0,075		0.612	0.242	0.614	-0.558	-0.303	-0.787
Ci	0,075			0.916	1.000**	-0.998*	-0.939	-0.97
E	0,075				0.915	-0.94	-0.998*	-0.789
Ci/Co2r	0,075					-0.998*	-0.938	-0.97
A/Ci	0,075						0.96	0.951
EUA	0,075							0.826
A	0,1	-0.217	-0.257	-0.978	-0.751	0.829	0.923	0.651
gs	0,1		0.999*	0.00893	0.807	-0.726	0.177	-0.882
Ci	0,1			0.0508	0.831	-0.754	0.135	-0.901
E	0,1				0.598	-0.694	-0.983	-0.479
Ci/Co2r	0,1					-0.992	-0.438	-0.99
A/Ci	0,1						0.549	0.964
EUA	0,1							0.308

\*significante a 5%

Tabela 8. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 20kPa. São Manuel, SP, 2010.

	<b>L.ha<sup>-1</sup></b>	<b>gs</b>	<b>Ci</b>	<b>E</b>	<b>Ci/Co2r</b>	<b>A/Ci</b>	<b>EUA</b>	<b>A/gs</b>
<b>A</b>	<b>0</b>	0.917	0.833	0.851	0.519	0.627	-0.78	-0.879
<b>gs</b>	<b>0</b>		0.984	0.571	0.817	0.265	-0.466	-0.996
<b>Ci</b>	<b>0</b>			0.417	0.906	0.0905	-0.302	-0.996
<b>E</b>	<b>0</b>				-0.00762	0.943	-0.992	-0.497
<b>Ci/Co2r</b>	<b>0</b>					-0.34	0.131	-0.864
<b>A/Ci</b>	<b>0</b>						-0.977	-0.18
<b>EUA</b>	<b>0</b>							0.387
<b>A</b>	<b>0,05</b>	-0.0751	-0.475	0.15	-0.659	0.814	0.0208	0.779
<b>gs</b>	<b>0,05</b>		-0.842	0.975	-0.701	0.519	-0.999*	-0.684
<b>Ci</b>	<b>0,05</b>			-0.941	0.975	-0.898	0.87	0.181
<b>E</b>	<b>0,05</b>				-0.843	0.697	-0.985	-0.503
<b>Ci/Co2r</b>	<b>0,05</b>					-0.973	0.738	-0.0416
<b>A/Ci</b>	<b>0,05</b>						-0.565	0.269
<b>EUA</b>	<b>0,05</b>							0.643
<b>A</b>	<b>0,075</b>	-0.675	-0.266	-0.992	-0.727	0.883	0.999*	0.995
<b>gs</b>	<b>0,075</b>		0.891	0.763	0.997*	-0.942	-0.705	-0.744
<b>Ci</b>	<b>0,075</b>			0.387	0.856	-0.687	-0.306	-0.36
<b>E</b>	<b>0,075</b>				0.808	-0.936	-0.996	-1.000*
<b>Ci/Co2r</b>	<b>0,075</b>					-0.964	-0.755	-0.791
<b>A/Ci</b>	<b>0,075</b>						0.902	0.925
<b>EUA</b>	<b>0,075</b>							0.998*
<b>A</b>	<b>0,1</b>	-0.993	0.993	-0.999*	-1.000*	0.996	1.000**	1.000*
<b>gs</b>	<b>0,1</b>		-0.974	0.986	0.99	-1.000*	-0.993	-0.995
<b>Ci</b>	<b>0,1</b>			-0.998*	-0.996	0.98	0.994	0.991
<b>E</b>	<b>0,1</b>				1.000*	-0.991	-0.999*	-0.997*
<b>Ci/Co2r</b>	<b>0,1</b>					-0.994	-1.000*	-0.999*
<b>A/Ci</b>	<b>0,1</b>						0.996	0.998*
<b>EUA</b>	<b>0,1</b>							1.000*

\*significante a 0,05%

Tabela 9. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 30kPa. São Manuel, SP, 2010.

	L.ha <sup>-1</sup>	gs	Ci	E	Ci/Co2r	A/Ci	EUA	A/gs
A	0	-0.999*	-0.71	0.115	-0.727	0.87	0.848	1.000*
gs	0		0.675	-0.163	0.692	-0.845	-0.822	-1.000*
Ci	0			0.619	1.000*	-0.965	-0.975	-0.69
E	0				0.599	-0.39	-0.429	0.141
Ci/Co2r	0					-0.971	-0.98	-0.708
A/Ci	0						0.999*	0.856
EUA	0							0.834
A	0,05	0.757	-0.986	-0.877	-0.994	0.995	0.939	-0.705
gs	0,05		-0.854	-0.35	-0.823	0.82	0.486	-0.997*
Ci	0,05			0.786	0.998*	-0.998*	-0.87	0.813
E	0,05				0.82	-0.824	-0.989	0.279
Ci/Co2r	0,05					-1.000**	-0.897	0.778
A/Ci	0,05						0.899	-0.774
EUA	0,05							-0.419
A	0,075	0.937	0.619	1.000**	0.0901	0.339	-1.000*	-0.897
gs	0,075		0.305	0.942	-0.263	0.646	-0.926	-0.995
Ci	0,075			0.608	0.838	-0.529	-0.642	-0.208
E	0,075				0.0773	0.351	-0.999*	-0.903
Ci/Co2r	0,075					-0.906	-0.12	0.359
A/Ci	0,075						-0.311	-0.72
EUA	0,075							0.883
A	0,1	-0.982	-0.189	0.983	-0.436	0.641	-0.919	0.997
gs	0,1		0.371	-0.93	0.598	-0.774	0.827	-0.994
Ci	0,1			-0.00404	0.966	-0.875	-0.214	-0.268
E	0,1				-0.262	0.488	-0.976	0.965
Ci/Co2r	0,1					-0.97	0.0446	-0.507
A/Ci	0,1						-0.286	0.701
EUA	0,1							-0.884

\*significante a 5%

Tabela 10 Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre as diferentes variáveis estudadas em plantas de feijão (aos 5 dias após o estágio R7) referentes á tensão de 40kPa. São Manuel, SP, 2010.

	L.ha <sup>-1</sup>	gs	Ci	E	Ci/Co2r	A/Ci	EUA	A/gs
A	0	-0.866	-0.0393	0.835	-0.547	0.614	-0.784	0.942
gs	0		0.534	-0.998*	0.892	-0.926	0.989	-0.984
Ci	0			-0.583	0.858	-0.813	0.651	-0.373
E	0				-0.918	0.947	-0.996	0.971
Ci/Co2r	0					-0.997	0.949	-0.797
A/Ci	0						-0.971	0.843
EUA	0							-0.947
A	0,05	0.0524	0.261	-0.429	0.249	-0.246	0.648	0.771
gs	0,05		-0.95	0.88	-0.954	0.955	-0.726	-0.595
Ci	0,05			-0.984	1.000**	-1.000**	0.904	0.816
E	0,05				-0.982	0.981	-0.966	-0.906
Ci/Co2r	0,05					-1.000**	0.899	0.808
A/Ci	0,05						-0.898	-0.807
EUA	0,05							0.985
A	0,075	0.254	0.427	0.143	0.0984	-0.214	-0.0184	-0.15
gs	0,075		0.983	0.994	0.988	-0.999	-0.972	-0.994
Ci	0,075			0.956	0.942	-0.975	-0.912	-0.958
E	0,075				0.999*	-0.997*	-0.992	-1.000**
Ci/Co2r	0,075					-0.993	-0.997	-0.999*
A/Ci	0,075						0.981	0.998*
EUA	0,075							0.991
A	0,1	-0.908	0.108	-0.999*	-0.536	0.729	1.000*	0.985*
gs	0,1		0.319	0.888	0.841	-0.949	-0.901	-0.966
Ci	0,1			-0.152	0.782	-0.602	0.125	-0.0637
E	0,1				0.498	-0.698	-1.000*	-0.977
Ci/Co2r	0,1					-0.969	-0.522	-0.672
A/Ci	0,1						0.717	0.835
EUA	0,1							0.982

\*significante a 5%

## 6.2 Análises enzimáticas

Peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) constituem a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (ROS), e as alterações na sua atividade e quantidades foram identificados como um indicador de mudança do estado redox em plantas sob condições de seca (MORAN et al, 1994 e SCHWANZ; POLLE, 2001).

Nos resultados para a superóxido dismutase obtidos através do extrato foliar, na qual os tratamentos que não receberam deficiência hídrica, pode se observar que houveram diferentes respostas em função às diferentes doses de piraclostrobina (Figura 1). Neste caso verifica-se que a atividade da enzima diminuiu nas doses 0,05 e 0,075L.ha<sup>-1</sup> e foi incrementada na dose de 0,1L.ha<sup>-1</sup>, não diferindo estatisticamente da testemunha. Contudo não houve diferença estatística na resposta da CAT e POD, porém pode-se verificar que a dose de 0,05 e 0,075 L.ha<sup>-1</sup> de piraclostrobina propiciou a menor média para estas enzimas respectivamente.

Como efeito benéfico a piraclostrobina aumentou e também acelerou a atividade enzimática nas plantas estressadas. A dose de 0,1 L.ha<sup>-1</sup> apresentou efeitos positivos na produção enzimática em todos os tratamentos de deficiência hídrica. Contudo os seus benefícios não foram refletidos na fotossíntese e na produtividade das plantas, supostamente por ser uma dosagem que possa comprometer outros mecanismos das células que não foram testados.

Aparentemente os efeitos fisiológicos desse fungicida são mais caracterizados em plantas que estão passando por algum tipo de estresse, fazendo com que eles funcionem como protetores acionando mecanismos que possam combater seus efeitos maléficos. Bertelsen et al. (2001) notaram que os efeitos da piraclostrobina é menos expresso em plantas que não passaram por estresse.

AMARO (2010), estudando o efeito da piraclostrobina no estresse em plantas de pepino enxertado e não enxertado, encontrou maiores benefícios fisiológicos da piraclostrobina em plantas enxertadas, demonstrando que o efeito desse fungicida é mais evidente em plantas que passaram por estresse.

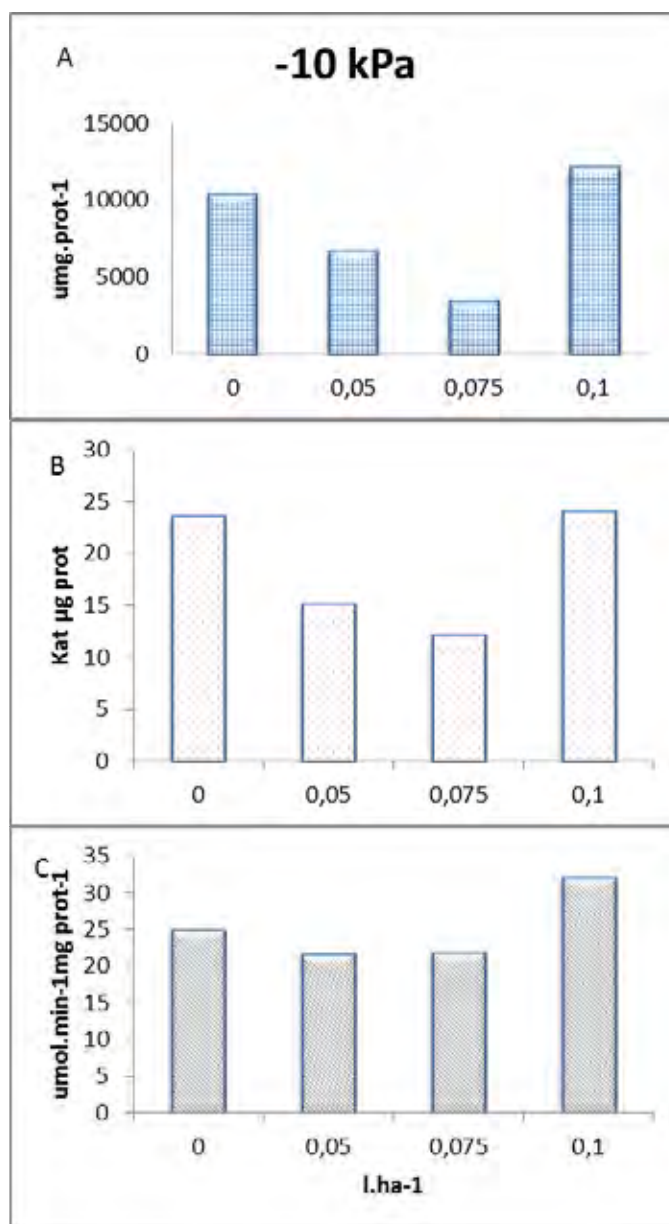


Figura 1- Atividade da superóxido dismutase (**A**, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (**B**, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (**C**, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha<sup>-1</sup>) na tensão de 10kPa, dois dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010

O aumento da dose de piraclostrobina propiciou a diminuição das médias da atividade de SOD, no tratamento de deficiência hídrica de -20 kPa; resultado este que, novamente, sugere que a atividade enzimática foi acelerada (Figura 2) e adiantando a atividade da catalase em relação às demais. A dose de 0,075 l.ha<sup>-1</sup> apresentou tendência em

apresentar a maior média a esta enzima mostrando que a atividade protetora contra o estresse foi efetiva para este tratamento. A atividade da POD manteve-se baixa entre os tratamentos de piraclostrobina, sugerindo que existia naquele momento baixa quantidade de extrato para o consumo.

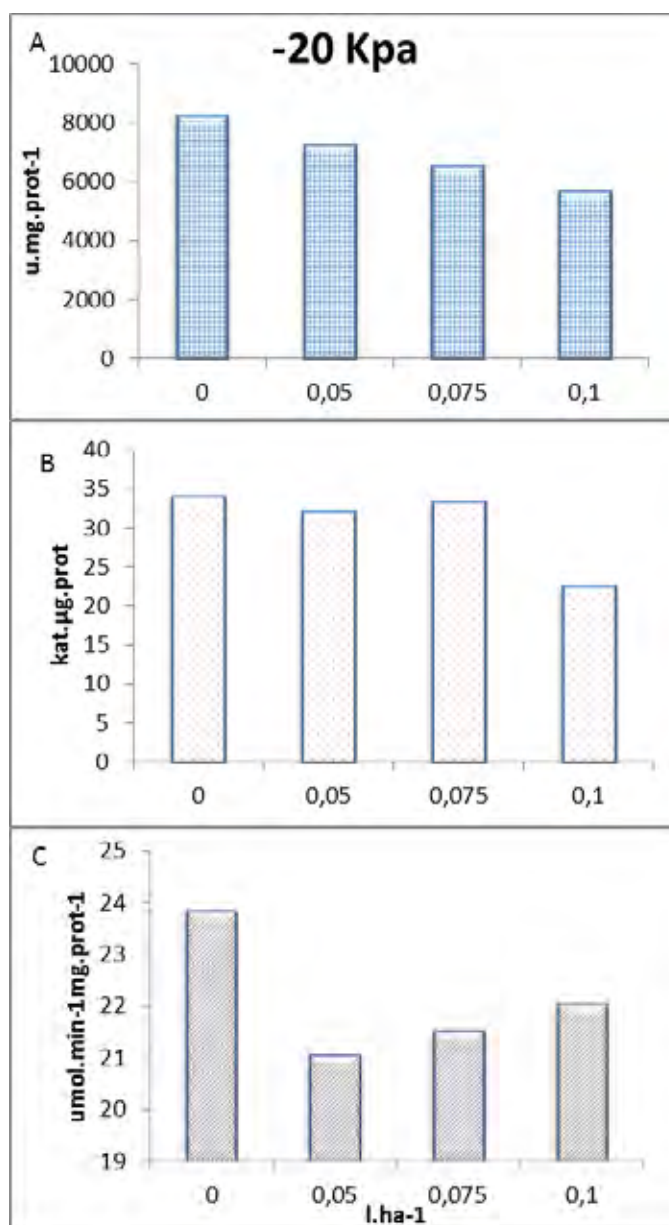


Figura 2. Atividade da superóxido dismutase (A, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (B, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (C, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina (L.ha<sup>-1</sup>) na tensão de 20kPa a quatro dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010

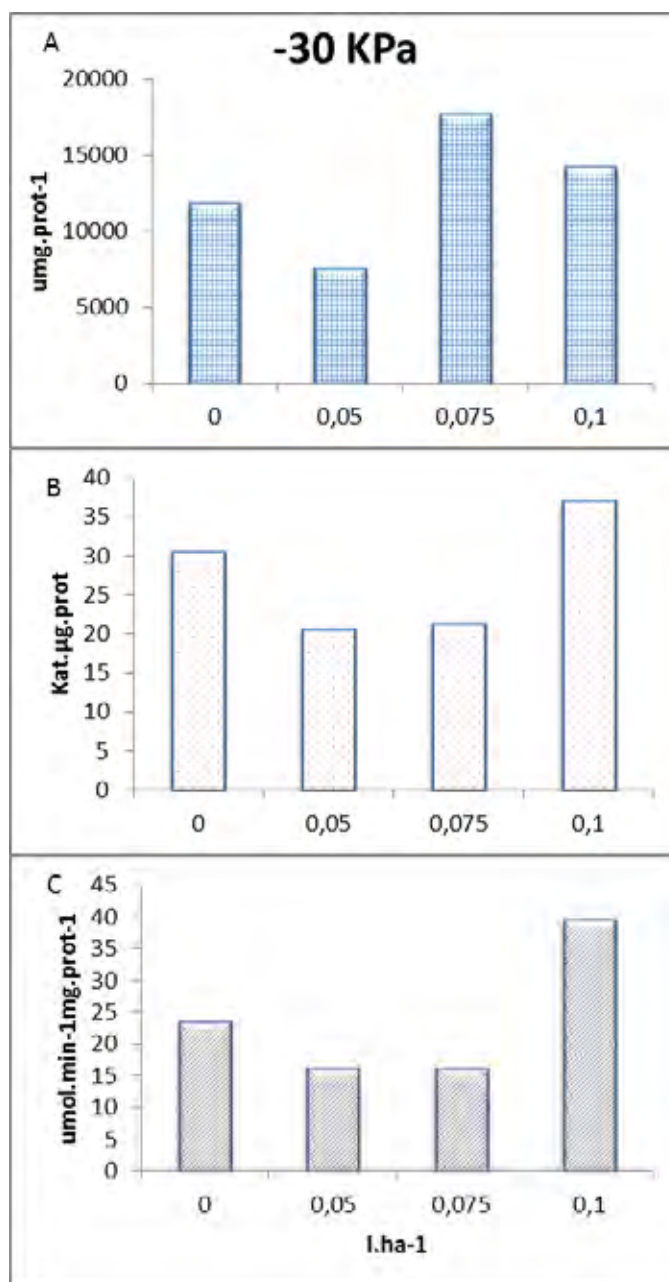


Figura 3. Atividade da superóxido dismutase (**A**, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (**B**, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (**C**, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( $L.ha^{-1}$ ) na tensão de 30kPa a cinco dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.

Assim como nos resultados anteriores, na deficiência hídrica de -30 kPa, também observou-se que, com o aumento da dose de piraclostrobina, aumentou-se a

atividade enzimática, resultado este que já era esperado, pois o nível de estresse foi maior. As dosagens de 0,075 e 0,1 l.ha<sup>-1</sup> de piraclostrobina corresponderam às maiores médias de atividade da SOD dentro da deficiência de -30KPa.

A piraclostrobina também modificou a atividade enzimática nas plantas referentes à tensão de -40kPa. Os valores médios da atividade da Superóxido dismutase destaca a dose de 0,075 que semelhantemente à atividade a -30kPa (Figura 3) foi a maior, sugerindo a adequação da dose utilizada ao aumento do estresse produzido pelo aumento da tensão, aumentando a atividade desta enzima.

Contudo comparando a atividade da catalase entre as doses de piraclostrobina, observamos que, foi alta nas plantas que não foram tratadas e na dose 0,1 l.ha<sup>-1</sup> e baixa a 0,05 e 0,075 l.ha<sup>-1</sup>, isto pode estar relacionado pelo fato da SOD apresentar-se em atividade e com boa eficiência consumindo assim grande parte do O<sub>2</sub><sup>-</sup> e gerando pouco H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, no caso das da baixa resposta ou pressupõe-se que a atividade da SOD já tenha cessado, gerado uma grande quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, obrigando assim o aumento da atividade da CAT no caso da sua alta atividade.

A peroxidase é a ultima enzima a consumir os radicais livres nas quais as outras não conseguiram metabolizar, seguindo este raciocínio, observamos na Figura 4 que a atividade da peroxidase é maior nas plantas que não receberam a piraclostrobina, dando a entender que ocorreram maiores sobras de radicais livres no final do processo, sugerindo que a quantidade produzida de SOD e CAT não foram suficientes, ou talvez, obtiveram baixa eficiência no combate da “ROS”.

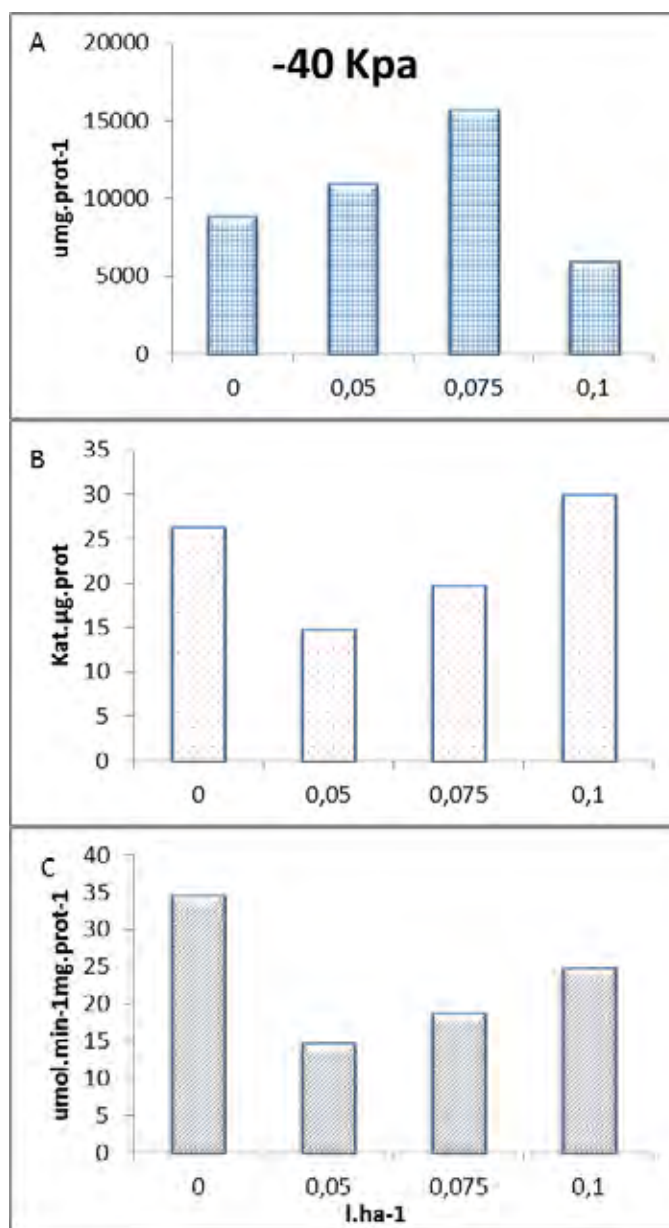


Figura 4. Atividade da superóxido dismutase (A, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (B, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (C, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ( L.ha<sup>-1</sup>) na tensão de 40kPa a sete dias após a interrupção da irrigação. São Manuel, SP, 2010.

Desta forma podemos verificar na TABELA 10 a ação da SOD entre os tratamentos de deficiência hídrica. Ao aumento da atividade desta enzima é observada quando a deficiência hídrica está em -30 e -40 kPa respectivamente sendo a dose de 0,075 L.ha<sup>-1</sup> piraclostrobina efetiva a este aumento, e isto também pode ser verificado para a catalase e peroxidase, corroborando com a idéia de que a ação fisiológica da piraclostrobina está relacionada à condições de estresse.

Estes resultados coincidem com os obtidos para as trocas gasosas (Tabela 2, página 41) onde a dose de 0,075L.ha<sup>-1</sup> apresentou os melhores resultados de fotossíntese, principalmente quando a deficiência hídrica foi de -30 kPa, aparentemente o efeito fisiológico do fungicida foi em promover uma melhor atividade enzimática no controle do estresse oxidativo das células, melhorando assim o desempenho fotossintético da planta.

Tabela 11. Comparação das médias de superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>				
		<b>KPa</b>	<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>SOD</b>	<b>-10</b>		10346,93 Ab	6712,23 Ac	3512,70 Bd	12139,23 Aa
	<b>-20</b>		8227,71 Aa	7240,26 Aa	6525,32 Ba	5682,91 Ba
	<b>-30</b>		11880,18 Ac	7655,98 Ad	17719,92 Aa	14264,47 Ab
	<b>-40</b>		8762,94 Ac	10826,58 Ab	15610,01 Aa	5857,60 Bc
<b>cv%</b>			36,8			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste t (LSD).

A atividade da catalase nos níveis de deficiência hídrica é observada na Tabela 12. O aumento dessa atividade se dá juntamente com o aumento da deficiência hídrica, caracterizando o estresse oxidativo ocasionado pelo estresse hídrico. Como pode ser observado, a ação da piraclostrobina na SOD reflete-se no desempenho da catalase.

Tabela 12. Comparação das médias de catalase (CAT, EC 1.11.1.6), em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>				
		<b>KPa</b>	<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>CAT</b>	<b>-10</b>		23,46Ca	15,04 Ca	12,09Ca	23,97 Ba
	<b>-20</b>		34,14Ba	32,10 Aa	33,36 Aa	22,58 Ca
	<b>-30</b>		30,47 Aa	20,53 Bb	21,29Bb	37,07 Aa
	<b>-40</b>		26,28Bb	14,76 Cc	19,73Bb	29,92 Ba
		<b>cv%</b>	39,4			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste t (LSD).

Na Tabela 13 confirmamos que a ação da peroxidase é mais elevada quando, no final da cadeia de controle da ROS há sobras de radicais livres, sendo este fato devido à baixa eficiência das demais enzimas, ou talvez, pela menor quantidade produzida das mesmas quando as plantas não receberam a piraclostrobina.

Tabela 13. Comparação das médias de peroxidase (POD, EC 1.11.1.7), em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>				
		<b>KPa</b>	<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>POD</b>	<b>-10</b>		24,88Aa	21,78 Aa	21,94 Aa	32,03 Ba
	<b>-20</b>		23,84 Aa	21,06 Aa	21,52 Aa	22,04 Ca
	<b>-30</b>		23,59 Ab	16,27 Ab	16,32 Ab	39,43 Aa
	<b>-40</b>		34,45 Aa	14,66 Ac	18,68 Ac	24,84 Cb
		<b>cv%</b>	33,12			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste t (LSD).

As respostas das plantas ao estresse hídrico são altamente complexas, envolvendo deletérios e/ou adaptação. As primeiras respostas das plantas ao estresse hídrico geralmente ajudam a planta a sobreviver por algum tempo, o que pode ser explicado pela aclimatação onde as plantas submetidas à seca aumentam o acúmulo de certos metabólitos novos associados com as capacidades estruturais para melhorar o funcionamento das plantas sob estresse hídrico (REDDY et al., 2004).

A atividade da Catalase responde de diversas maneiras a deficiência hídrica; ela pode aumentar, diminuir ou permanecer inalterada (ZHANG ; KIRKHAM, 1996; ZGALLAÏ et al., 2006) . Relativa à alternativa de eliminação de  $H_2O_2$ , a catalase é distinguida pela sua eficiência e pela baixa abrangência aos diferentes peróxidos (NICHOLLS et al., 2001). Conseqüentemente a peroxidase é uma ferramenta muito eficiente no controle de altos níveis de  $H_2O_2$ , porém não muito adequada no equilíbrio do potencial redutor quando os níveis de  $H_2O_2$  forem muito baixos. A catalase não depende de nenhum outro fator redutor adicional no trabalho de limpeza de  $H_2O_2$ , o que representa uma grande vantagem a esta enzima (FEIERABEND, 2005).

### **6.3 Senescência e produtividade**

Aos 79 DAE as plantas de feijão que não receberam a deficiência hídrica apresentavam-se completamente secas independentemente da dose de piraclostrobina utilizada (Figuras 5, 6, 7 e 8), porém ocorreu nos tratamentos que receberam o estresse hídrico atraso do início do envelhecimento (Figura 5).

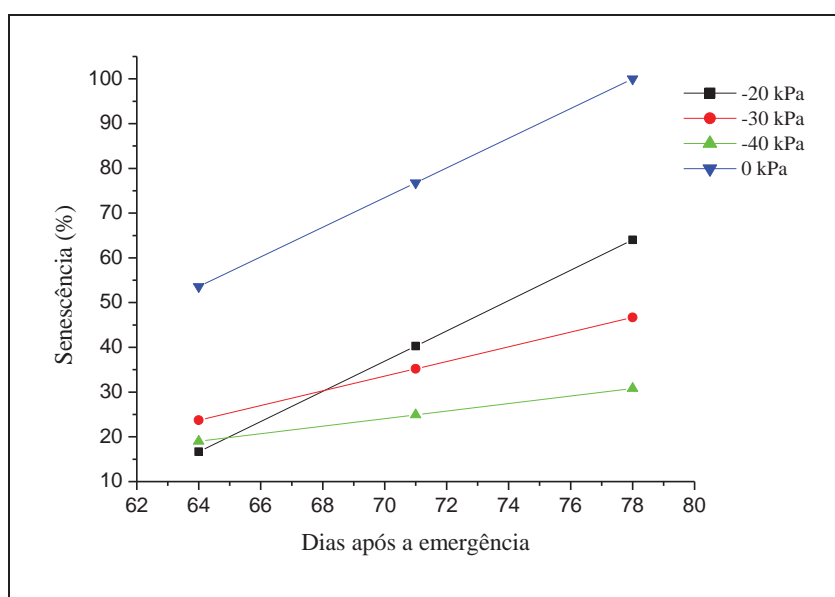


Figura 5. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que não receberam o tratamento de piraclostrobina.

Observa-se que houve atraso da senescência com o aumento da tensão. Pressupõe-se que devido ao aumento da atividade enzimática nestas plantas em decorrência do estresse oxidativo, acarretou em um efeito protetor e atrasando o envelhecimento das células.

Verifica-se aos 64 DAE (dias após a emergência), que as plantas de feijão que receberam a dose de  $0,05 \text{ L.ha}^{-1}$  da piraclostrobina apresentavam 15% e 20% de folhas senescentes respectivamente para os tratamentos de -30 e -40 kPa e 25% para -20 e 0 kPa.

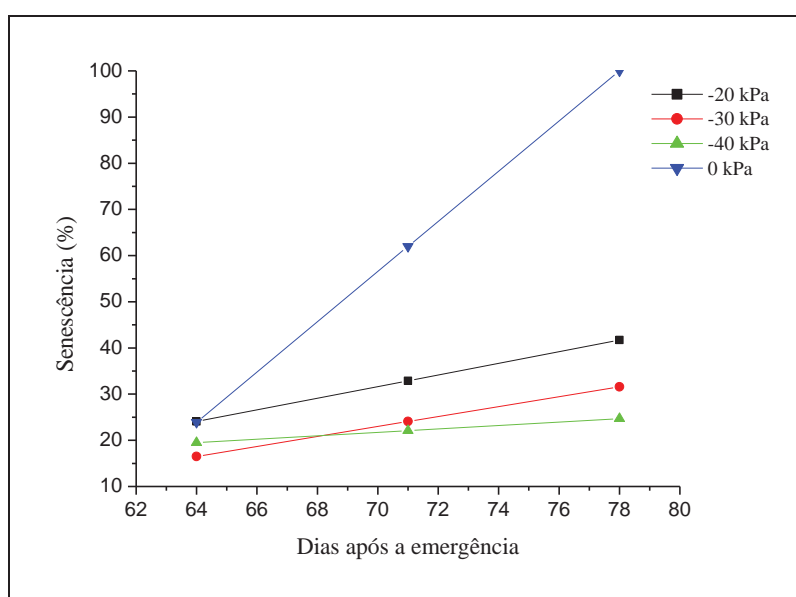


Figura 6. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de  $0,05 \text{ L.ha}^{-1}$ .

As plantas que receberam  $0,075$  e  $0,1 \text{ L.ha}^{-1}$  apresentavam 15 e 25% das folhas senescentes respectivamente para os estresse de  $-40$  e  $-30 \text{ kPa}$  e 15 e 30% para os estresse de  $-20$  e  $0 \text{ kPa}$ , em comparação com as plantas que não receberam nenhum tratamento (testemunhas) que apresentavam mais de 50% de folhas senescentes no mesmo período.

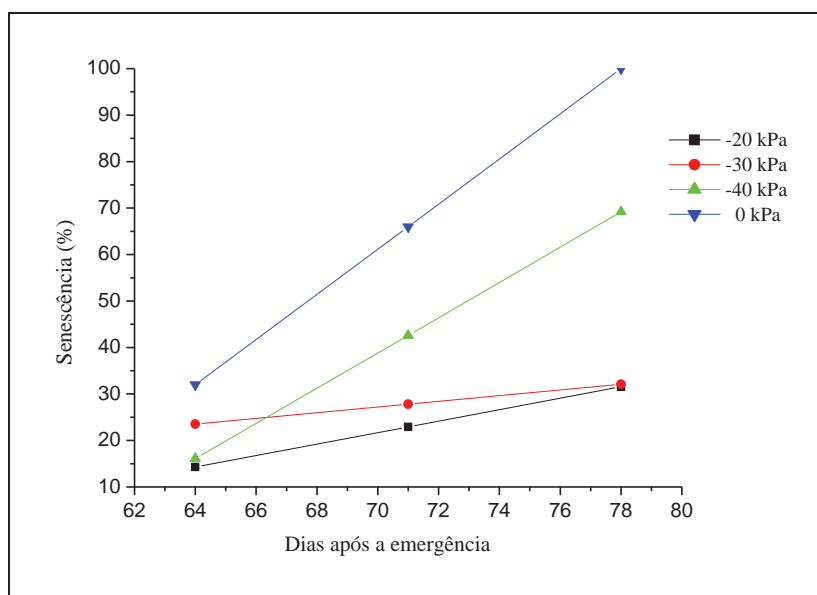


Figura 7. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de  $0,075 \text{ L.ha}^{-1}$ .

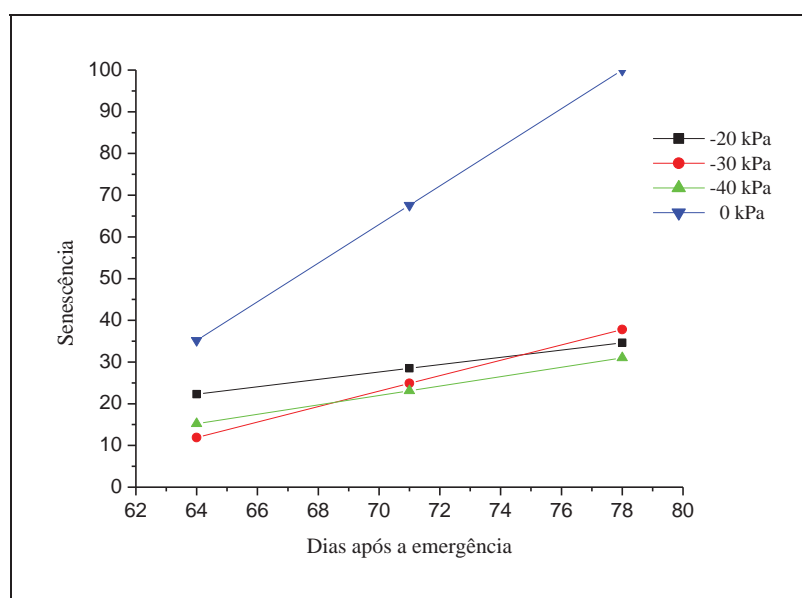


Figura 8. Gráfico de senescência das plantas submetidas ao estresse hídrico e que receberam o tratamento de piraclostrobina na dose de  $0,1 \text{ L.ha}^{-1}$ .

Não houve diferença estatística da senescência nas diferentes doses de piraclostrobina aos 64 DAE (Tabela 14), porém houve diferença para as plantas do tratamento testemunha, que apresentaram acentuada senescência (Tabela 15).

Tabela 14. Comparação das médias de senescência (64 DAE) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	61.7 Aa	35.3 Aa	45.7 Aa	36.1 Aa
	<b>-20</b>	44.1 Aa	42.3 Aa	36.8 Aa	46.4 Aa
	<b>-30</b>	54.8 Aa	36.5 Aa	42.2 Aa	38.0 Aa
	<b>-40</b>	58.2 Aa	45.6 Aa	33.6 Aa	31.2 Aa
<b>cv%</b>		31.4			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 0,05% pelo teste de Tukey.

Tabela 15. Comparação das médias de senescência (79 DAE) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		<b>L.ha<sup>-1</sup></b>			
		<b>0</b>	<b>0,05</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>
<b>kPa</b>	<b>-10</b>	84.26 Aa	53.15 Ba	57.60 Ba	58.77 Ba
	<b>-20</b>	84.26 Aa	59.62 Ba	58.60 Ba	55.10 Ba
	<b>-30</b>	84.26 Aa	56.97 Ba	56.34 Ba	56.43 Ba
	<b>-40</b>	84.26 Aa	54.62 Ba	59.39 Ba	65.98 Ba
<b>cv%</b>		12.7			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

As análises de variância das Tabelas 14 e 15 mostram que as doses piraclostrobina não influenciaram o tempo do ciclo da cultura. Segundo Köehle *et al.* (2002) além de agir diretamente na cadeia transportadora de elétrons, a estrobilurina piraclostrobina atua como moderador de estresses bióticos e abióticos por participar no metabolismo do ácido nítrico e de hormônios de estresse como é o caso do ácido abscísico. Assim, o decréscimo na respiração nas plantas com estrobilurina pode ser um fator importante, pois diminui o desperdício de energia da planta para o metabolismo de manutenção, o qual é aumentado em condições de estresse.

Próximos ao ponto de maturação fisiológica das plantas, a senescência das folhas mais velhas e sombreadas do dossel ocorrem naturalmente. No entanto sob condições de déficit hídrico este processo é acelerado para reduzir o consumo de água (DAVIES; ZANG, 1991). Possivelmente quando a deficiência hídrica é aplicada por um curto período de tempo isto pode não ocorrer, ou seja, as plantas conseguem retomar o crescimento ao invés de entrar em senescência. Foi observado (Figura 5), que as plantas nas quais retomaram o crescimento por primeiro, rapidamente também completaram o ciclo possuindo assim maior índice de senescência em relação às plantas que foram submetidas por um estresse maior (consequentemente um período maior para chegar ao estresse hídrico desejado) que atrasaram a retomada do crescimento e por fim o ciclo.

Segundo Gardner (1979), na medida em que avança o desenvolvimento da planta, aumenta também a proporção de folhas desenvolvidas em relação às folhas em crescimento. Carlesso *et al.* (2007) avaliando a senescência das plantas de feijão submetidas a diferentes lâminas de irrigação encontraram rápida retomada do crescimento das folhas das plantas na pré-floração (irrigação com aplicação de lâmina de 45 mm) e concluíram que esta retomada do crescimento deve ter sido facilitada pelo fato de ser relativamente maior a quantidade de folhas jovens em crescimento no dossel, em comparação à existente na fase de enchimento das vagens. Além disso, antes do período reprodutivo os fotoassimilados são, em grande parte, canalizados para o crescimento vegetativo, sendo que no período reprodutivo surgem novos “drenos”, representados pelos órgãos de reprodução cujo desenvolvimento é prioritário (GUILFFORD; EVANS, 1981).

Tabela 16. Teste de Tukey para área foliar ( $\text{cm}^2.\text{planta}^{-1}$ ) para os tratamentos de estresse hídrico e doses de piraclostrobina no estádio R5. São Manuel, SP, 2010.

<b>kPa</b>	<b>L.ha<sup>-1</sup></b>	<b>Média</b>
-10	0	481,47 c
-10	0,05	440,79 c
-10	0,075	286,03 e
-10	0,1	309,57 d
-20	0	296,51 d
-20	0,05	421,10 c
-20	0,075	654,77 a
-20	0,1	356,93 d
-30	0	471,84 c
-30	0,05	492,94 c
-30	0,075	440,53 c
-30	0,1	563,75 b
-40	0	541,10 c
-40	0,05	519,01 c
-40	0,075	377,56 d
-40	0,1	516,69 c

cv%: 20,06

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao teste t ao nível de 5% de probabilidade .

A Tabela 16 mostra o efeito fisiológico da piraclostrobina no aumento da área foliar em plantas no início da fase reprodutiva, quando aplicou-se apenas um ciclo de deficiência hídrica. A maior área foliar foi proporcionada pela dose de 0,075 L.ha<sup>-1</sup> de piraclostrobina ao nível de deficiência hídrica de -20kPa. Contudo antes do período reprodutivo os fotoassimilados são, em grande parte, canalizados para o crescimento vegetativo, sendo que no período reprodutivo surgem novos “drenos”, representados pelos órgãos de reprodução cujo desenvolvimento é prioritário (GUILFFORD ; EVANS, 1981).

O peso de matéria seca da parte aérea (caule e folhas) mostra que houve diferenças incremento de matéria seca pelas plantas nos diferentes tratamentos (Tabela 17). Observa-se que com o aumento da dose da piraclostrobina, o incremento de matéria seca passou a ser maior nas plantas que sofreram as maiores restrições hídricas, ou seja, a dose de 0,05l.ha<sup>-1</sup> propiciou o maior peso de matéria seca nas plantas que não receberam a deficiência

hídrica, a dose de 0,075 L.ha<sup>-1</sup> aumentou o peso nas plantas que receberam o potencial de -20KPa e a dose de 0,1 L.ha<sup>-1</sup> incrementou a matéria seca nas plantas que foram submetidas à deficiência de -30 e -40 kPa respectivamente.

Plantas sob deficiência hídrica tem, usualmente, sua área foliar e produção de matéria seca diminuídas (TURK et al, 1980; SINGH, 1989). Comportamento semelhante de plantas de feijão comum foi observado por BONANNO & MACK (1983) que ao analisar o efeito de diferentes níveis de irrigação no desenvolvimento da cultura, verificaram que a massa seca total de plantas e folhas, a área foliar, a área média por folha e o número de folhas por planta, diminuíram com o aumento do déficit de água do solo.

TABELA 17- Comparação das médias massa de matéria seca (g.planta<sup>-1</sup>) em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca tratadas com diferentes doses de piraclostrobina sob estresse hídrico. São Manuel, SP, 2010.

		L.ha <sup>-1</sup>			
		0	0,05	0,075	0,1
kPa	-10	9,26 Cc	15,06 Aa	9,30 Cc	12,23 Ab
	-20	8,10 Db	10,06 Cb	17,03 Aa	9,00 Ab
	-30	15,13Aa	13,56 Ba	13,46 Ba	11,96 Aa
	-40	13,6 Ba	10,36 Ba	9,90 Ca	12,00 Aa
cv%		25,3			

Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas.

Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

O rendimento de grãos da cultura foi diferente para cada tratamento aplicado. As plantas testemunha apresentaram um rendimento de 4000 kg.ha<sup>-1</sup>, caindo para 2815 kg.ha<sup>-1</sup> na deficiência hídrica de -20 kPa e para 2200 kg.ha<sup>-1</sup> na deficiência de -40 kPa. A piraclostrobina promoveu incrementos no rendimento de grãos, como pode ser visto na Figura 9. Os maiores incrementos na produtividade foram dados pela dose de 0,075 l.ha<sup>-1</sup> dentro das diferentes potenciais hídricos aplicados à cultura.

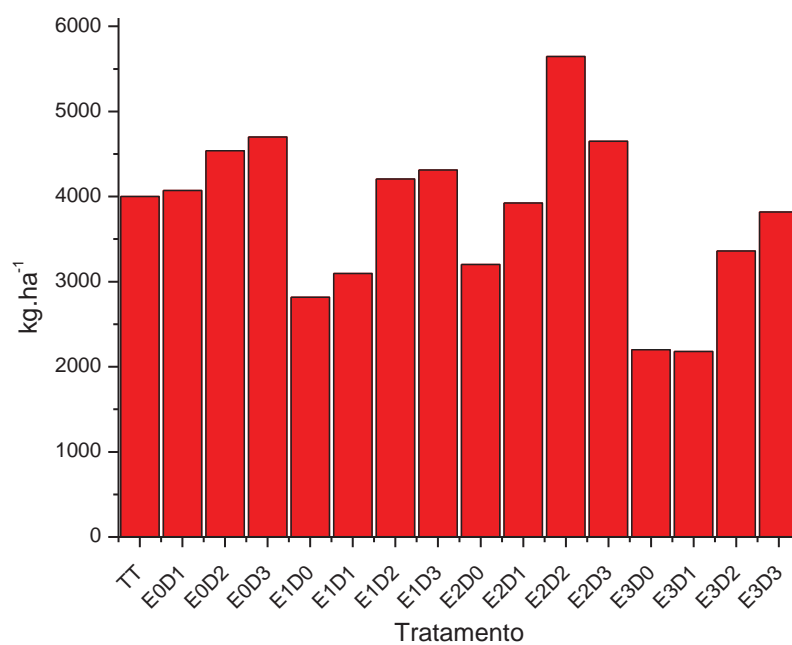


Figura 9. Produtividade de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>) em função dos tratamentos de deficiência hídrica (E) e de dose de piraclostrobina(D) onde TT-(0 kPa e 0 l.ha<sup>-1</sup>), E0(-10 kPa), E1 (-20 kPa), E2 (-30 kPa), E3 (-40kPa),D0 (0 l.ha<sup>-1</sup>), D1 (0,05 l.ha<sup>-1</sup>), D2(0,075 l.ha<sup>-1</sup>) e D3 (0,1 l.ha<sup>-1</sup>).

## 7 CONCLUSÕES

As plantas que foram estressadas em consequência da deficiência hídrica e que receberam o tratamento com piraclostrobina apresentaram efeitos positivos na atividade fotossintética tais como:

- Maior assimilação líquida de CO<sub>2</sub>,
- Melhor condutância estomática e concentração interna de CO<sub>2</sub>
- Maior eficiência da atividade da ribulose 1,5- difosfato carboxilase (Rubisco)
- Maior eficiência no uso da água e transpiração.

Desta forma a atividade fotossintética foi regulada pela piraclostrobina aumentando a eficiência da fotossíntese.

No combate das espécies reativas de oxigênio a piraclostrobina:

- Aumentou a quantidade de enzimas produzidas nas plantas sob deficiência hídrica, propiciando maior eficiência da SOD e da CAT, acelerando o combate dos radicais livres, diminuindo os efeitos da deficiência hídrica na cultura.

A aplicação de piraclostrobina aumentou a massa seca e a produtividade de grãos.

Os efeitos fisiológicos da piraclostrobina foram intensificados nas plantas que passaram pelo estresse hídrico.

## **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No decorrer do experimento pode-se observar que a intensa irrigação no tratamento sem deficiência hídrica, também estressou as plantas, não pela falta de água, e sim pelo excesso, pois muita humidade na região das raízes diminui a capacidade de respiração do órgão, diminuindo sua capacidade de produção de ATP, dificultando desta forma, a absorção de nutrientes e a interação com os microrganismos que realizam simbiose.

A deficiência hídrica, por outro lado, como ocorreu de forma moderada e em duas fases consideradas críticas da cultura (florescimento e enchimento da vagem), melhorou a atividade metabólica da planta, ativando-a, e quando o primeiro ciclo de deficiência terminou, percebeu-se que a planta já estava preparada para a deficiência hídrica do segundo ciclo. De certa forma as plantas ajustaram a carboxilação à quantidade de água disponível e esse efeito persistiu após a reidratação.

Na cultura do feijoeiro a piraclostrobina mostrou-se um produto muito eficiente no combate ao estresse hídrico, levando-se em consideração que seus efeitos beneficiam as plantas que estão sob deficiência hídrica baixa a moderada.

## 9 REFERÊNCIAS

AASAMAA, K.; SÖBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO<sub>2</sub> concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 71 p. 72-78, 2011a.

AASAMAA, K.; SÖBER A. Responses of stomatal conductance to simultaneous changes in two environmental factors. **Tree Physiology**, Oxford, v. 31, p. 855-864, 2011b.

ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTVEIT JUNIOR, M. E. **Ethylene in plant biology**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. 414 p.

ALBRECHT, S. L.; BENNET, J. M.; BOTE, K. J. Relationship on nitrogenase activity to plant water stress in field grown soybean. **Field Crop Research**, Warwick, v. 8, p. 61-71, 1984.

AMARO, A. C. E. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agronômicas Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 85, p. 235-241, 1992.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 601-639, 1999.

- ASSMANN, S. M.; SHYMAZAKI, K. The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 119, n. 3, p. 809-816, 1999.
- BARLETT, D. W. et al. Understanding the strobirulin fungicides. **Pesticide Outlook**, Cambridge, v. 12, n. 4, p. 143-146, 2001.
- BERTELEN, J. R.; DE NEEGAARD, E.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. **Plant Physiology**, Rockville, v. 50, n. 2, p. 190-205, 2001.
- BONANNO, A. R.; MACK, H. J. Water relations and growth of snap beans as influenced by differential irrigation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, p. 837-44, 1983.
- BRAGA, M. B. et al. Desenvolvimento e avaliação de um sistema de tubo perfurado portátil, utilizado na condução de experimentos de irrigação no campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 24., 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBEA, 1995. p. 23
- BRANDÃO FILHO, J. U. T. et al. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 3, p. 474-477, 2003.
- BRODRIBB, T. J.; MCADAM, S. A. M. Passive origins of stomatal control in vascular plants. **Science**, London, v. 331, p. 582-585, 2011.
- BRYSON, R. J.; LEANDRO, L.; JONES, D. R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE-PESTS AND DISEASES, 2000, Farnham. **Proceedings...** Farnham: British Crop Protection Council, 2000. p. 739-747.
- BUSAM, G.; KASSEMAYER, H. H.; MATTERN, U. Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators of fungal challenge. **Plant Physiology**, Rockville, v. 115, p. 1029-1038, 1997.
- CAÑIZARES, K. A. L.; RODRIGUES, J. D.; GOTO, R. Crescimento e índices de troca gasosas em plantas de pepino irrigadas com água enriquecida com CO<sub>2</sub>. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 706-711, 2004.
- CARLESSO, R. et al. Efeito da lâmina de irrigação na senescência foliar do feijoeiro **Irriga**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 545-556, 2007.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, p.1-16, 1991.

CHIEPPE JUNIOR, J. B. Métodos de controle da irrigação na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob três tensões de água do solo. 1998. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Produção de feijão. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 07 dez. 2011.

CORNIC, G. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. In: BAKER, N. R.; BOWYER, J. R. (Eds.). Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field. **BIOS Scientific Publications**, Oxford, v. 1, p. 297-313, 1994.

CORPAS, F. J. et al. Metabolism of activated oxygen in peroxisomes from two *Pisum sativum* L. cultivars with different sensitivity to sodium chloride. **Journal of Plant Physiology**, Cambridge v. 141, p. 160-165, 1993.

CORTÉS, F. **Histologia vegetal básica**. Madrid: H. Blume, 1980. 119 p.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. Root signals and regulation of growth and development plants in drying soil. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, Stanford, v. 2, p. 55-76, 1991.

DEBOUCK, D. Systematics and morphology. In: VAN CHOONHOVEN, A.; VOYSEST, O. (Eds.). Common beans: research for crop Improvement. Cali: CAB International, 1993. p. 55-118.

DEL RIO, L. A. et al. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, p. 1195-1200, 1998.

DIAS, M.C.; BRÜGGEMANN, W. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. **Photosynthetica**, Frankfurt, v. 48 p. 96-102, 2010.

DOI, M.; SHIMAZAKI, K. I. The stomata of the fern *Adiantum capillus-veneris* do not respond to CO<sub>2</sub> in the dark and open by photosynthesis in guard cells. **Plant Physiology**, Rockville, v. 147, p. 922-930, 2008.

DOI, M.; WADA, M.; SHIMAZAKI K. The fern *Adiantum capillus-veneris* lacks stomatal responses to blue light. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 47 p. 748-755, 2006.

DOORENBOS, J.; PRUITT, W. O. **Guidelines for predicting crop water requirements**. 2. ed. Roma: FAO, 1975. 179 p.

DOORENBOS, J.; PRUITT, W. O. **Las necesidades de agua de los cultivos**. Roma: FAO, 1976. v. 24. 194 p.

DORNHOFF, G. M.; SHIBLES, R. M. Varietal differences in net photosynthesis of soybean leaves. **Crop Science**, Madison, v. 10, p. 42-45, 1970.

- DUNNE, B. Strobilurin use on cereal. **Crop Protection**, Guilford, v. 23, p.17-20, 2005.
- DURAND, J. L.; SHEEHY, J. E; MINCHIN, F. R. Nitrogenase activity, photosynthesis and nodule water potential in soybean plants experiencing water deprivation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 187, p. 311-321, 1987.
- EVANS, J. R. Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. **Oecologia**, Berlin, v. 78, n. 1, p. 9-19, 1989.
- FAGAN, E. B. **A cultura da soja: modelo de crescimento e aplicação de piraclostrobina**. 2007. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Boca Raton, v. 33, p. 317-345, 1982.
- FAVARETTO, V. F et al. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 70, p. 20-28, 2011.
- FEIERABEND, J. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defense. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Antioxidants and reactive oxygen species in plants**. Oxford: Blackwell, p. 101-140, 2005.
- FLEXAS, J. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. **Functional Plant Biology, Collingwood**, v. 29, p. 461-471, 2002.
- FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitation revisited. **Annals of Botany**, London, v. 89, p. 183-189, 2002.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Food Productions. 2009. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>>. Acesso em: 07 dez. 2011.
- FOYER, C.H.; DESCOURVIERES, P.; KUNERT, K. J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 17, p. 507-523, 1994.
- FOYER C. H, LELANDAIS, M.; KUNERT, K.J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 92, p. 696-717, 1994.
- FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. **Photoassimilate distribution in plants and crops: Source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 331-340.

- GALLE, A. et al. The role of mesophyll conductance during water stress and recovery in tobacco (*Nicotiana glauca*): acclimation or limitation? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2379-2390, 2009.
- GARDENER, T. R.; VIETOR, D. M.; CRAKER, L. E. Growth habit and row width effects on leaf area development and light interception on field beans. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 59, p. 191-199, 1979.
- GAVILANES, M. L. **Notas complementares ao livro texto da disciplina histologia e anatomia vegetal**. Lavras: UFLA, 1995. 51 p.
- GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Origin domestication and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) In: SHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Eds.). **Common beans: research for crop improvement**. Cali: CAB International, 1993. p. 7-53.
- GERHARD, M.; HABERMAYER, J.; ZINKERNAGEL, V. The impact of strobilurins on plant vitality on winter wheat under field conditions. In: LYR, H. et al. **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, 1999. p. 197-208.
- GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Pesticide Science**, Oxford, v. 50, p. 11-20, 1997.
- GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; RETZLAFF, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the *Strobilurin* Kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 154, p. 805-808, 1999.
- GUILFFORD, R. M.; EVANS, L. T. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. **Annual review Plant Physiology**, Palo Alto, v. 32 p. 485-509, 1981.
- GUIMARÃES, C. M. Efeitos fisiológicos do estresse hídrico. In: ZIMMERMANN, M. J. de O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1998. p. 157-174.
- GUTIERREZ-CIRLOS, E. B.; MERBITZ-ZAHRADNIK, T.; TRUMPOWER, B. L. Failure to insert the iron-sulfur cluster into the Rieske iron-sulfur protein impairs both center N and center P of the cytochrome bc<sub>1</sub> complex. **Journal Biological Chemistry**, Rockville, v. 277, p. 50703-50709, 2002.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. London: Oxford University Press, 2000.
- HARVEY, I. C. Epidemiology and control of leaf and awn spot of barley caused by *Ramularia collo-cygni*. **New Zealand Plant Protection**, Auckland, v. 55, p. 331-335, 2002.
- HERNÁNDEZ, J. A. et al. Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 89, p. 103-110. 1993.

HERNÁNDEZ, J. A. et al. Role of hydrogen peroxide and the redox state of ascorbate in the induction of antioxidant enzymes in pea leaves under excess light stress. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 31, p. 359-368, 2004.

HERSNMANN et al.,2004. Quadris and warrior use on soybean: means of capturing additional yield? Disponível em: <[http://www.uky.edu/agriculture/kpn/kpn\\_04/pn040209.htm#soybeans](http://www.uky.edu/agriculture/kpn/kpn_04/pn040209.htm#soybeans)>. Acesso em: 28 nov. 2011.

HORNER, G. M.; MOJTEREDI, M. Yield of grain legumes as affected by irrigation and fertilizer regimes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, p. 449-450, 1970.

HOSTALÁCIO, S.; VÁLIO, I. F. M. Desenvolvimento de plantas de feijão cv. Goiano precoce, em diferentes regimes de irrigação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 2, p. 211-218, 1984.

HUTMACHER, R. B.; KRIEG, D. R. Photosynthetic rate control in cotton. Stomatal and nostonatal factors. **Plant Physiology**, Rockville, v. 73, n. 3, p. 658-661, 1983.

JABS, T. Can strobilurins still deliver? **Crop Protection**, Guildford, v. 17, p. 19-20, 2004.

JADOSKI, S. O. **População, espaçamento de plantas e manejo da irrigação para a cultura do feijoeiro**. 1999. 111 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1999.

KARPINSKI, S. et al. Systemic signaling and acclimation in response to excess excitation energy in *Arabidopsis*. **Science**, Washington, DC, v. 284, p. 654-657, 1999.

KASELE, I. N.; NYIRENDA, F.; SHANAHAN, J. F. Ethephon alters water use and grain yield under drought stress. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 283-288, 1994.

KAWAY, H. et al. Responses of ferns to red light are mediate by an unconventional photoreceptor. **Nature**, London, v.421, p.287-290, 2003.

KÖEHLE, H. et al. Physiological effects of the strobilurin fungicide F500 on plants. In: DEHENE, H. W. (Eds.). **Modern fungicides and antifungal compounds III**. Bonn: GmbH & Co., 2002. p. 61-74.

KOHLE, H. et al. Biokinetic properties of BAS 490 F and some related compounds . **Biochemical Society Transaction**, London, v. 22, p. 65S, 1994.

KOLE, H. et al. Physiologische einflüsse desneuen getreidefungizidez juwel auf die ertragsbildung. **Gesunde Pflanzen**, Berlin, v. 49, p. 267-271, 1997.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 550 p. 2006.

- LAWLOR, D. W. The effects of water deficit on photosynthesis. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation**. Oxford: BIOS Scientific Publications, 1995. p. 129-160.
- LEIDI, E. O. et al. Searching for tolerance to water stress in cotton genotypes: photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. **Photosynthetica**, Prague, v. 28 p. 383-390, 1993.
- LEON, J. **Fundamentos botânicos de los cultivos tropicales**. San José: IICA, 1968. 487 p.
- MAROCO, J. P. et al. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought: metabolic and modelling approaches. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 29, p. 451-459, 2002.
- MICHAEL, G. **The influence os strobirlurin containing fungicides on physiological processes of yield formation in winter wheat varieties**. 2002. 288 f. (Thesis)-Technical University of Munich, Berlin, 2002.
- MITTLER, R.; ZILINSKAS, B. A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. **The Plant Journal**, Oxford, v. 5, p. 397-405, 1994.
- MORAN, J. F. et al. Drought induces oxidative stress in pea plants. **Planta**, Heidelberg, v. 194, p. 346-352, 1994.
- NAVARINI, L. et al. Controle químico da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 182-186, 2007
- NI, B.; PALLARDY, S. G. Stomatal and nonstomatal imitation to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1502-1508, 1992.
- NICHOLLS, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. Enzymology and structure of catalases. **Advances in Inorganic Chemistry**, Maryland Heights, v. 51, p. 51-106, 2001.
- NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto v. 49, p. 249-279, 1998.
- OLIVEIRA, R. F. de. Efeito fisiológico do F500 na planta de soja e milho. **Atualidades Agrícolas BASF**, São Paulo, p. 9-11, 2005.
- PALLARDY, S. G.; RHOADS, J. L. Morphological adaptations to drought in seedlings of deciduous angiosperms. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 23, p. 1766-1774, 1993.
- PANKOVIC, D. et al. Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 127-138, 1999.

PARRY, M. A. J. et al. Rubisco activity: effects of drought stress. **Annals of Botany**, London, v. 89, p. 833-839, 2002.

PINHEIRO, M. M. et al. A defesa das plantas contra as doenças. **Revista Ciência Hoje**, São Paulo, v. 147 p. 25-31, 1999.

POPOV, E. G. et al. Effect of temperature on diurnal changes in CO<sub>2</sub> exchange in intact cucumber plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 50, n. 2, p.178-182, 2003.

PORTES, T.A. Ecofisiologia. In: ARAÚJO, R. S. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 101-137.

PRICE, A. H.; HENDRY, G. A. F. Iron-catalyzed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 14, p. 477-484, 1991.

RAVA, C. A. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e mancha angular do feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p 65-69, 2002.

REDDY, A. R. ; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart v .161, p.1189-1202, 2000.

RODRIGUES, M. A. T. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura de soja**. 2009. 197 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

RUSZALA, E. M. et al. Land plants acquired active stomatal control early in their evolutionary history. **Current Biology**, London, v. 21 p. 1-6, 2011.

SCHULZE, E. D. et al. Plant water balance. **BioScience**, Uberlândia, v. 37 p. 30-37, 1987.

SCHWANZ, P.; POLLE, A. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pedunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO<sub>2</sub> concentrations. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 133-143, 2001.

SETZER, J. **Contribuição para o estudo do clima do Estado de São Paulo**. São Paulo: Escolas Profissionais Salesianas, 1946. 239 p.

SHIMAZAKI, K. et al. Light regulation of stomatal movement. **Annual Review Plant Biology**, Oxford, v. 58, p. 219-224, 2007.

SINGH, P. B. Irrigation water management for bush snap bean production. **Hortscience**, Alexandria, v. 24, p. 69-70, 1989.

SMITH, P. **Agro projects: disease projects**. Surrey: PJB, 2002.

- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820 p.
- TOFOLI, J. G. **Ação de fungicidas e acibenzolar-s-methyl no controle da pinta preta do tomateiro**. 2002. 127 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- TURK, K. J.; HALL, A. E.; ASBELL, C. W. Drought adaptation of cowpea. I. Influence of drought on seed yield. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, p. 413-420, 1980.
- VAVASSEUR, A.; RAGHAVENDRA, A. S. Guard cell metabolism and CO<sub>2</sub> sensing. **New Phytologist**, Cambridge, v. 165, n. 3, p. 665-682, 2005.
- VENÂNCIO, W. S. et al. Novos fungicidas. I - Produtos naturais e derivados sintéticos: estrubirulinas e fenilpirroles. In: LUZ, W. C. et al. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 7, p. 103-155, 1999.
- VENÂNCIO, W. S. et al. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2003.
- VENÂNCIO, W. S. et al. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2004.
- VIEIRA, C. Melhoramento. O feijoeiro comum; cultura, doenças e melhoramento. Viçosa, MG: Universidade Rural, 1967.
- YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, Secaucus, v. 38, p. 171-186, 2000.
- ZGALLAÏ, H.; STEPPE, K.; LEMEUR, R. Effects of levels of water stress on leaf water potential, protein and chlorophyll content and anti-oxidative enzymes in tomato plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 48, p. 679-685, 2006.
- ZHANG, J.; KIRKHAM, M. B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. **New Phytologist**, Lancaster, v. 132, p. 361-373, 1996.