

ÍCARO MONTEIRO GALVÃO

**USO DE BIOESTIMULANTES EM FEIJOEIRO CULTIVADO SOB DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

Botucatu

2019

ÍCARO MONTEIRO GALVÃO

**USO DE BIOESTIMULANTES EM FEIJOEIRO CULTIVADO SOB DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Irrigação e
Drenagem)

Orientador: Fernando Broetto

Botucatu

2019

G182u

Galvão, Ícaro Monteiro

Uso de bioestimulantes em feijoeiro cultivado sob deficiência hídrica / Ícaro Monteiro Galvão. -- Botucatu, 2019
73 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Fernando Broetto

1. Phaseolus vulgaris L.. 2. Estresse por seca. 3. Bactérias promotoras de crescimento. 4. Metabolismo antioxidante. 5. Manejo da irrigação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

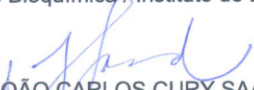
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: USO DE BIOESTIMULANTES EM FEIJOEIRO CULTIVADO SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA

AUTOR: ÍCARO MONTEIRO GALVÃO

ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. JOÃO CARLOS CURY SAAD
Engenharia Rural / UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu


Dr. MARCELO LEONARDO
Casa da Agricultura / Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI

Botucatu, 30 de maio de 2019

Ao meu Tio Galvão

Que infelizmente nos deixou este ano

(in memoriam)

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu, especialmente a Faculdade de Ciências Agrônômicas, Instituto de Biociências, a todos os funcionários e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Irrigação e Drenagem) pela oportunidade e toda a estrutura disponível para meu aprendizado e crescimento como profissional.

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

Ao Grupo Vittia pelo financiamento da pesquisa.

A todos os docentes do programa de Pós-Graduação no qual tive oportunidade de conhecer, pelos conhecimentos compartilhados e profissionalismo.

Ao meu orientador Fernando Broetto, pela amizade, por compartilhar de seus conhecimentos com seus orientados e disponibilidade em sempre ajudar quando solicitado.

Aos membros da banca por aceitar o convite e pelas sugestões.

Aos meus amigos de laboratório, Osvaldir, Mara, João, Dariane, Tamires, Irineu e Alessandro, pela amizade e ajuda na condução e avaliações durante o experimento.

A todos colegas de PG pela parceria dentro e fora das salas.

Agradeço a minha mãe Iracema, meus irmãos Iuri, Bruno, Breno, Tâmara, Lorena e Thiago, minhas sobrinhas Alice e Ana Júlia, aos meus primos, tios, tias e avós pelo apoio e torcida para conclusão de mais essa etapa.

Agradeço especialmente meu pai Ecio e minha avó Edna por sempre acreditarem no meu potencial e me incentivarem a buscar meus sonhos mesmo que fosse a mais de 2000 km de distância de casa. A saudade é grande mais sempre soube que vocês estavam presentes de alguma forma me dando forças para continuar. Esse título não é só meu, mas de todos vocês.

Agradeço a toda família da república Santa Cerva pela amizade e irmandade. Com certeza a adaptação em Botucatu foi mais fácil por conhecer vocês e me deixarem fazer parte desta família.

A Vânia, ao Neto e seus filhos, agradeço por todo carinho, amizade e principalmente por me tratarem como parte da família de vocês.

Agradeço também a Universidade Estadual de Santa Cruz, na qual me graduei como Engenheiro Agrônomo pela base de conhecimentos que me proporcionou durante meu curso e especialmente aos professores Rafael Marani e Adriana Ramos pela amizade e incentivo de seguir na pós-graduação.

Por fim a todos os meus amigos que ficaram na Bahia, mas que estão sempre presentes de alguma forma e torcendo por mim.

RESUMO

A deficiência hídrica (DH) constitui um dos graves problemas para agricultura resultando em perdas de produção. O entendimento do comportamento das culturas frente a esta condição se torna de grande importância para auxiliar no manejo. O feijoeiro é uma planta bastante sensível aos efeitos da deficiência hídrica, especialmente se a mesma for imposta nas fases reprodutivas, sendo observadas alterações principalmente de ordem morfológica, fisiológica, bioquímica, que culminam em redução na produção. A utilização de bioestimulantes tem se destacado por atuarem como promotores de crescimento vegetal e apresentar capacidade de atenuar os impactos da DH nas plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento morfológico, fisiológico, bioquímico e produtivo do feijoeiro submetido a deficiência hídrica no solo e o potencial de mitigação dessa condição pela inoculação de bioestimulantes a base de bactérias promotoras de crescimento, *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 e a associação com extratos de algas *Ascophyllum nodosum*. O ensaio foi conduzido em estufa agrícola em Botucatu-SP com feijoeiro comum cv. IAC Imperador, disposto em esquema parcela subdivididas em blocos casualizados e 4 repetições. Os tratamentos nas parcelas foram as lâminas de irrigação (10 kPa - Controle e 40 kPa - DH moderada) e nas subparcelas os bioestimulantes via tratamento de sementes (B1- controle; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas-*Ascophyllum nodosum*). A irrigação foi por gotejamento e o monitoramento da umidade do solo foi feita por tensiometria. As variáveis analisadas foram diâmetro do caule; número de folhas; área foliar, biomassa seca das folhas, caule, raiz e total; comprimento, diâmetro e volume radicular; conteúdo relativo de água (CRA); teor de pigmentos foliares; trocas gasosas; proteínas solúveis totais; teor de L-prolina e atividade específica da enzima superóxido dismutase (SOD) e os parâmetros de produção. O feijoeiro foi afetado significativamente com a imposição da DH com reduções no crescimento, acúmulo de biomassa e produção. Como mecanismo de resposta ao estresse o feijoeiro apresentou aumento no CRA e nos teores de prolina e SOD. Os bioestimulantes promoveram incremento na atividade fotossintética apenas em plantas com lâmina de irrigação controle (10 kPa). Nas demais avaliações e variáveis não foram observados resultados significativos em função da aplicação de bioestimulantes. A hipótese do trabalho não foi confirmada, uma vez

que os tratamentos com bioestimulantes nas condições do presente estudo não foram eficientes em mitigar os efeitos da deficiência hídrica moderada em feijoeiro.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. Estresse por seca. Bactérias promotoras de crescimento. Metabolismo antioxidante. Manejo da irrigação.

ABSTRACT

Water deficiency (WD) is one of the serious problems for agriculture, resulting in production losses. The understanding of the behavior of the crops in front of this condition becomes of great importance to assist in the handling. The bean is a plant very sensitive to the effects of water deficiency, especially if it is imposed in the reproductive phases, being observed changes mainly of morphological, physiological, biochemical, that culminate in reduction in the production. The use of biostimulant has been outstanding because they act as promoters of plant growth and have the ability to mitigate the impacts of water deficiency on plants. The objective of this work was to evaluate the morphological, physiological, biochemical and productive behavior of common bean submitted to soil water deficiency and the potential of mitigation of this condition by the inoculation of biostimulants based on growth promoting bacteria, *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 and the association with extracts of algae *Ascophyllum nodosum*. The experiment was conducted in an agricultural greenhouse in Botucatu-SP with common bean cv. IAC Imperador, arranged in plot scheme subdivided into randomized blocks and 4 repetitions. The treatments in the plots were applied to the irrigation levels (10 kPa - Control and 40 kPa – moderate WD) and in the subplots the biostimulants via seed treatment (B1- control; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extract of algae- *Ascophyllum nodosum*). The irrigation was by drip irrigation and soil moisture monitoring was done by tensiometry. The analyzed variables were stem diameter; number of leaves; leaf area; leaf dry biomass, stem dry biomass, root dry biomass and total dry biomass; length, diameter and root volume; relative water content (RWC); leaf pigment content; gas exchange; total soluble proteins; L-proline content and specific activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) and production parameters. The bean was significantly affected by the imposition of WD with reductions in growth, biomass accumulation and yield. As a mechanism of stress response the common bean increased in the RWC and in the contents of proline and SOD. Biostimulants promoted an increase in photosynthetic activity only in plants with a control irrigation levels (10 kPa). In the other evaluations and variables, no significant results were observed due to the application of biostimulants. The hypothesis of the work was not confirmed, since the treatments with biostimulants

under the conditions of the present study were not efficient to mitigate the effects of moderate water deficiency in common bean.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Drought stress. Growth promoting bacteria. Antioxidant metabolism. Irrigation management

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1 - AÇÃO DE BIOESTIMULANTES NA CULTURA DO FEIJOEIRO SUBMETIDA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA	18
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
1.3 RESULTADOS.....	26
1.4 DISCUSSÃO	33
1.5 CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS.....	38
 CAPÍTULO 2 - USO DE BIOESTIMULANTES EM FEIJOEIRO SUBMETIDO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA COMO ESTRATÉGIA PARA MITIGAÇÃO DOS EFEITOS FISIOLÓGICOS DO ESTRESSE	 41
2.1 INTRODUÇÃO.....	43
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.3 RESULTADOS.....	50
2.4 DISCUSSÃO	59
2.5 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS.....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
REFERÊNCIAS.....	70

INTRODUÇÃO GERAL

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas produzidas em todo o mundo. Além do aspecto econômico, apresenta grande importância nutricional, uma vez que o grão é base da alimentação em diversos países. No Brasil a expectativa da produção total do grão para safra de 2018/2019 é de 3,07 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

As áreas de cultivo ao longo dos anos estão expandindo para regiões com baixos índices pluviométricos. As distribuições irregulares das chuvas nessas regiões podem expor a cultura a períodos de deficiência hídrica em alguma fase de seu desenvolvimento. Sabe-se que o feijoeiro é uma planta sensível a deficiência hídrica, especialmente pela baixa capacidade de recuperação quando submetida a esta condição.

A exigência hídrica da cultura é variável com o estágio de desenvolvimento, sendo que a maior demanda de água pelas plantas ocorre no início do florescimento e se estende até o enchimento de grãos.

Os impactos da falta de água para o feijoeiro durante o seu desenvolvimento são altamente variáveis conforme o tempo de exposição, a intensidade do estresse imposto às plantas, características do cultivar utilizado e habilidade das plantas em se adaptar a essa condição adversa (ROSALES et al., 2012; EMAM et al., 2010). O déficit hídrico nesta fase reduz o crescimento e a produção dos grãos (MATHOBO et al., 2017).

O estresse hídrico desencadeia uma ampla variedade de respostas dos vegetais, incluindo mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e em nível molecular (ZLATEV; LIDON, 2012; ANJUM et al., 2011). Para se adaptar aos diferentes tipos de estresses abióticos, as plantas podem ativar mecanismos múltiplos, tais como o aumento da capacidade de obter e/ou reter água visando restaurar a homeostase iônica (REJILI et al., 2007). Estes mecanismos de tolerância refletem na redução do crescimento (MUNNS; TESTER, 2008), mudanças na parte aérea/raiz (TATTINI et al., 2006) e restrição de expansão foliar (CRAMER, 2002). Esses mecanismos são consequência de alterações metabólicas (síntese de ácido abscísico e acúmulo de solutos osmoprotetores como prolina e/ou betaína), alterações fisiológicas da permeabilidade da membrana (SKERRETT; TYERMAN, 1994), fechamento dos estômatos e redução da transpiração ou fotossíntese.

Em geral, as respostas ao estresse ambiental são complexas porque esses processos afetam diferentes partes da planta e de diferentes formas. Assim, todos os processos fisiológicos das plantas podem variar em uma situação estressante, embora apenas algumas dessas mudanças podem conferir tolerância à planta.

O estresse hídrico pode induzir o sistema de resposta antioxidativo devido à geração e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células. Essas espécies reativas são altamente tóxicas e apresentam potencial para causar impactos como peroxidação lipídica, alterações na permeabilidade de membranas, danos às proteínas, carboidratos e modificações do DNA, podendo levar à morte celular (DIAS et al., 2018; GILL; TUTEJA, 2010).

As plantas desenvolveram vários mecanismos para evitar a formação de EROs ou dismutar aquelas formadas. Alguns dos mecanismos estão relacionados ao metabolismo antioxidante, enzimático e não enzimático, que podem dismutar os radicais livres, reduzindo os danos a eles associados (DIAS et al., 2014; PINTÓ-MARIJUAN; MUNNÉ-BOSCH, 2014). O mecanismo enzimático corresponde à produção das enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR), monodesidroascorbato redutase (MDHAR), desidroascorbato redutase (DHAR), glutatona peroxidase (GPX), guaicol peroxidase (GOPX) e glutatona-S-transferase (GST). Os não enzimáticos estão relacionados com a síntese de compostos fenólicos, alcaloides, ácido ascórbico, glutatona e aminoácidos não proteicos (GILL; TUTEJA, 2010). O grau de tolerância à seca para algumas culturas tem sido correlacionado com a capacidade antioxidante da planta (PETRIDIS et al., 2012).

Outros mecanismos adotados pelas plantas para adaptação à seca incluem desenvolvimento do sistema radicular, ajustes na taxa de crescimento, modificações na estrutura da planta, utilização mais eficiente da água e ajuste osmótico (ANJUM et al., 2011). Essas mudanças no metabolismo vegetal podem ser potencializadas através do uso de insumos bioestimulantes. Estes compostos, de origem natural, podem ser agrupados em microrganismos benéficos, como bactérias promotoras de crescimento (BPC) e micorrizas, além de extratos de diferentes fontes como os obtidos de algas marrons (GROVER et al., 2014; KASIM et al., 2013).

Os bioestimulantes podem atuar na promoção do crescimento das plantas além de participarem nos processos de tolerância a estresses físicos, uma vez que as associações dos microrganismos com as plantas podem induzir mudanças

morfológicas e fisiológicas. Os bioestimulantes atuam permitindo melhores processos de floração, germinação, estabelecimento das plantas (HAYAT et al., 2010), produção de hormônios vegetais, como auxinas, citocininas e giberelinas. Podem ainda estar associados com melhoria do aporte de nutrientes, indução do crescimento radicular, ajustamento osmótico através da síntese de compostos orgânicos e na indução de sistemas de resposta antioxidativo (KUMAR; VERMA, 2018; NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016; GUIRY, 2012).

Com os cenários futuros de mudanças climáticas e possíveis alterações nos padrões de chuva e temperatura, se faz importante o estudo do comportamento das culturas frente a estas condições ambientais adversas. Além disso, o desenvolvimento de tecnologias agronômicas para as lavouras passam a ser imprescindíveis para a produção em condições adversas. Sendo assim este presente trabalho se justifica e teve como objetivo o estudo dos comportamentos morfológico, fisiológico, bioquímico e produtivo do feijoeiro submetido a deficiência hídrica. Paralelamente, avaliou-se possíveis efeitos atenuantes promovidos pelo uso de bioestimulantes a base de bactérias promotoras de crescimento, *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 e em combinação com extrato de algas da espécie *Ascophyllum nodosum*.

CAPÍTULO 1

AÇÃO DE BIOESTIMULANTES NA CULTURA DO FEIJOEIRO SUBMETIDA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Ícaro Monteiro Galvão, Fernando Broetto

RESUMO

A deficiência hídrica (DH) constitui um dos graves problemas para agricultura resultando em perdas de produção. O entendimento do comportamento das culturas frente a esta condição se torna de grande importância e a utilização de bioestimulantes pode atuar como promotor do crescimento vegetal, considerando-se sua capacidade em atenuar impactos da DH nas plantas. O objetivo do trabalho foi avaliar alterações em parâmetros biométricos e produtividade do feijoeiro suplementados com bioestimulantes, em resposta à imposição da DH. O ensaio foi conduzido em ambiente protegido em Botucatu-SP, com feijoeiro comum cv. IAC Imperador, disposto em esquema de parcelas subdivididas em blocos casualizados, com 4 repetições. Os tratamentos nas parcelas corresponderam a lâminas de irrigação (controle, 10 kPa e DH moderada, 40 kPa) e, nas subparcelas o tratamento B1 (controle); B2 (*Bacillus amyloliquefaciens* BV 03) e B3 (*Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas marrons – *Ascophyllum nodosum*). A irrigação foi por gotejamento sendo o manejo a partir de tensiometria. As variáveis biométricas incluíram diâmetro do caule; número de folhas e área foliar; biomassa seca das folhas, caule, raiz e total; comprimento, diâmetro e volume radicular; e os parâmetros de produção. Ao discutir os resultados, foi possível concluir que o feijoeiro é uma cultura bastante dependente de água, sendo que imposição da DH interferiu em todas as variáveis estudadas, com redução no crescimento, acúmulo de biomassa e produção. Os bioestimulantes aplicados (B2 e B3) apresentaram baixa capacidade de atenuar os efeitos da DH em feijoeiro nas condições de cultivo adotado.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. Estresse por seca. Bactérias promotoras de crescimento. Manejo da irrigação.

ACTION OF BIOSTIMULANTS IN COMMON BEAN SUBMITTED TO WATER DEFICIENCY

ABSTRACT

Water deficiency is one of the serious problems for agriculture resulting in production losses. The understanding of the behavior of crops against this condition becomes of great importance and the use of biostimulants can act as a promoter of plant growth, considering its capacity to mitigate impacts of water deficiency on plants. The objective of this work was to evaluate changes in biometric parameters and bean productivity supplemented with biostimulants, in response to the imposition of water deficiency. The experiment was conducted in a protected environment in Botucatu-SP, with common bean cv. IAC Imperador, arranged in a scheme of plots subdivided into randomized blocks, with 4 replicates. The treatments in the plots corresponded to irrigation levels (control, 10 kPa and moderate water deficit, 40 kPa) and in the subplots the treatment B1 (control); B2 (*Bacillus amyloliquefaciens* BV 03) and B3 (*Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + brown algae extract - *Ascophyllum nodosum*). The irrigation was by drip irrigation being the management from tensiometry. Biometric variables included stem diameter; number of leaves and leaf area; dry biomass of leaves, stem, root and total; length, diameter and root volume; and production parameters. When discussing the results, it was possible to conclude that the common bean is a very water dependent crop, and that water deficiency imposition interfered in all studied variables, with reduction in growth, accumulation of biomass and production. The applied biostimulants (B2 and B3) presented a low capacity to attenuate the effects of water deficiency on bean under the conditions of cultivation adopted.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Drought stress. Growth promoting bacteria. Irrigation management.

1.1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas produzidas no Brasil e no mundo. A expectativa da produção total brasileira do grão para safra de 2018/2019 é de 3,07 milhões de toneladas, uma queda de 1,3% comparado com a

safras anteriores (CONAB, 2019). Além do aspecto econômico, o feijoeiro apresenta grande importância nutricional, uma vez que o grão é base da alimentação em diversos países. Um dos fatores primordiais para o desenvolvimento e obtenção de altas produtividades da cultura do feijoeiro é o suprimento hídrico ideal nas diferentes fases fenológicas (KOBAYASHI et al., 2016).

O estresse causado pela falta de água no solo tem impactos consideráveis no crescimento e produtividade do feijoeiro. Entretanto, os efeitos são altamente variáveis conforme o tempo de exposição, a intensidade do estresse imposto às plantas, características do cultivar utilizado e habilidade das plantas em se adaptar a essa condição adversa (ROSALES et al., 2012; EMAM et al., 2010). A deficiência hídrica (DH) ocorre quando a disponibilidade de água no solo (pluviométrica ou via irrigação) é reduzida e as perdas devido ao sistema de evapotranspiração são mantidas durante o ciclo de uma cultura. A DH é caracterizada pela redução do teor de água, diminuição do potencial hídrico das folhas e perda de turgescência, seguido de fechamento de estômatos e diminuição do crescimento das plantas (JALEEL et al., 2009).

Dessa forma, como grande parte das culturas agrícolas, sabe-se que o feijoeiro é bastante sensível à deficiência hídrica, especialmente quando esta condição é imposta nas fases fenológicas de floração e durante o enchimento de vagens (MATHOBO et al., 2017). Sendo assim é de grande importância o estudo do comportamento agrônomo e produtivo das plantas sob estresse hídrico, nas condições e forma de cultivo convencional.

Com o desenvolvimento de novas tecnologias de cultivo, algumas alternativas têm sido apresentadas no meio rural para atenuar os efeitos de estresses bióticos e abióticos no crescimento e rendimento das culturas. Entre as alternativas mais difundidas, destaca-se o uso de bioestimulantes para a promoção do crescimento vegetal. Estes compostos naturais podem ser agrupados como microrganismos benéficos, como bactérias promotoras de crescimento (BPC) e micorrizas, além de extratos de diferentes fontes como os obtidos de algas marrons (GROVER et al., 2014; KASIM et al., 2013).

Os bioestimulantes podem atuar na promoção do crescimento das plantas além de atuarem nos processos de tolerância a estresses físicos. Essa ação parece estar correlacionada com a produção de fitohormônios, melhoria do aporte de nutrientes, indução do crescimento radicular, além de auxiliar no ajustamento

osmótico através da síntese de compostos orgânicos e na indução de sistemas de resposta antioxidativo (KUMAR; VERMA, 2018; NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016; GUIRY, 2012).

Baseado no estado da arte, este ensaio teve como objetivo avaliar os efeitos da DH sobre parâmetros biométricos e produção das plantas de feijoeiro. A partir de tratamentos com os bioestimulantes BPC e extrato de algas estudou-se possível atenuação dos impactos da DH sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal. Assim, a hipótese central do estudo é que as plantas tratadas com os bioestimulantes poderiam desenvolver mecanismos de resposta antecipados ao efeito da DH, favorecendo seu crescimento quando comparado às plantas do controle.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em estufa agrícola com área de 60 m² no Departamento de Química e Bioquímica do IBB/UNESP – Distrito de Rubião Junior - Botucatu, SP. O clima segundo Koppen é classificado como temperado quente (mesotérmico) com precipitação média anual de 1.428 mm. A temperatura média anual para a região é de 20,5 °C e umidade relativa variando entre 70% a 20% (ALVARES et al. 2013; CUNHA; MARTINS, 2009).

Para o monitoramento das condições climáticas durante o experimento foram feitas medidas de temperatura (Figura 1) e umidade relativa do ar (Figura 2) com o auxílio de termohigrômetro instalado na região central da estufa a uma altura do solo de aproximadamente 1,5 m e programado para realizar leituras a cada 30 minutos durante todo o período experimental e armazenadas em *datalogger*. A média de temperatura durante todo o período foi de 26 °C e de umidade relativa foi de 63,5 %, valores apropriados ao desenvolvimento do feijoeiro.

O cultivar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) escolhida foi a cv. IAC Imperador, de ciclo precoce e tipo de crescimento determinado. Os tratamentos com plantas de feijoeiro foram dispostos em parcelas subdivididas, sendo alocado nas parcelas duas lâminas de irrigação (controle – umidade do solo elevada a tensão correspondente a 10 kPa e DHM – umidade do solo elevada a tensão correspondente a 40 kPa) e nas subparcelas três combinações de bioestimulantes (B1- controle; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 (3 x 10⁹ UFC mL⁻¹); B3- *Bacillus*

amyloliquefaciens BV 03 + extrato de algas marrons *Ascophyllum nodosum*), em delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições e 10 plantas por repetição.

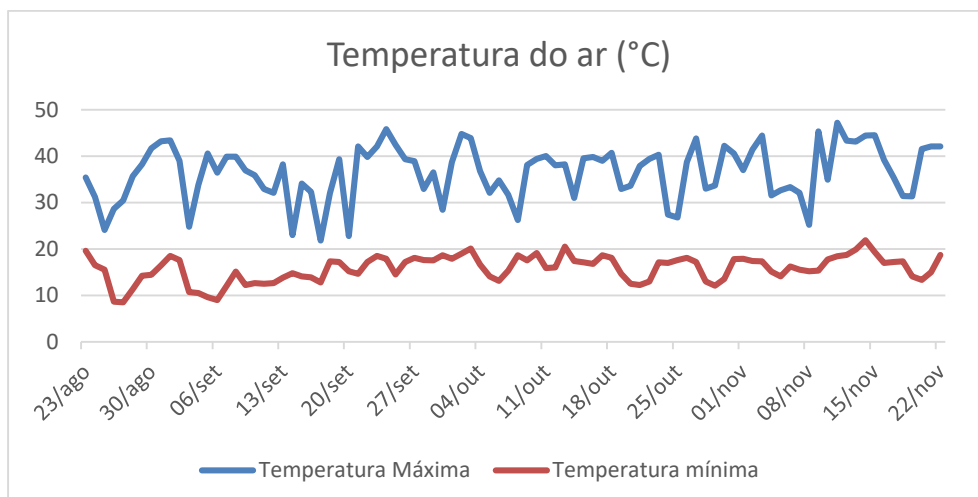


Figura 1: Temperatura do ar (°C) máxima e mínima no interior da estufa agrícola durante o período experimental.

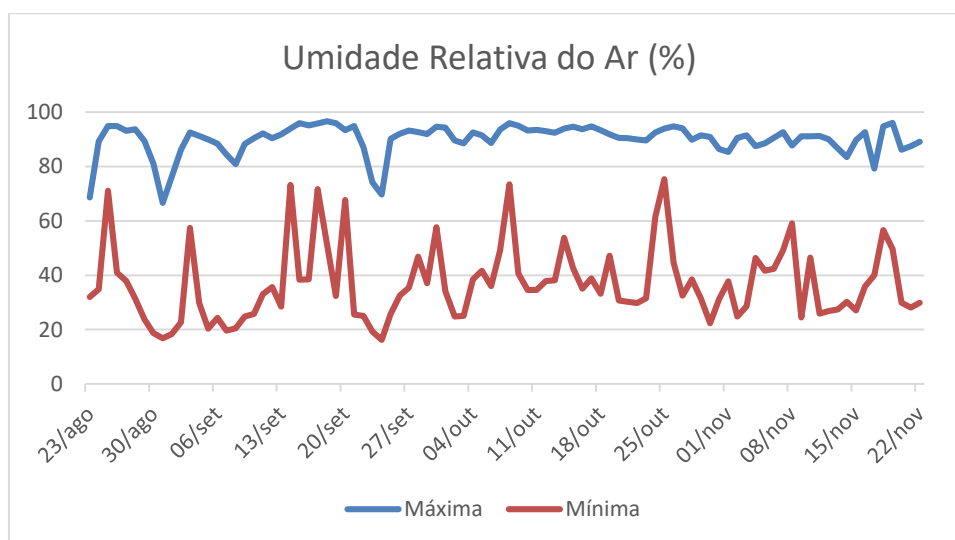


Figura 2: Umidade relativa do ar (%) máxima e mínima no interior da estufa agrícola durante o período experimental.

As unidades experimentais foram constituídas por vasos de polietileno com capacidade de 30 L, com solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico de textura franco arenosa coletado na Cidade de São Manuel, SP com as seguintes características: M.O. = 7 g dm⁻³; pH (CaCl₂) = 4,2; P (resina.) = 2 mg dm⁻³; K⁺ = 0,4;

$\text{Ca}^{2+} = 12$; $\text{Mg}^{+2} = 2$; $\text{H} + \text{Al} = 28$ e $\text{CTC} = 41 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{S} = 18$; $\text{B} = 0,19$; $\text{Cu} = 0,06$; $\text{Fe} = 11$; $\text{Mn} = 3,1$; $\text{Zn} = 0,4 \text{ mg dm}^{-3}$; Areia total = 774; Argila = 177; Silte = 49 g kg^{-1} e 33 % de saturação por bases. As adubações de plantio e cobertura seguiram as recomendações para cultura do feijoeiro para o estado de São Paulo conforme Boletim 200 do IAC (AGUIAR et al., 2014).

A aplicação dos tratamentos com bioestimulantes foi feita via inoculação de sementes (TS) uma hora antes do plantio. Para o tratamento B1 o TS foi realizado com água destilada na dose 2 mL kg^{-1} sementes, B2 – bioestimulante *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 na dose 2 mL kg^{-1} sementes; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas *Ascophyllum nodosum* na dosagem de 2 mL kg^{-1} sementes cada. Após a inoculação realizou-se o plantio em 23/08/2018 com quatro sementes por vaso prevendo desbaste posterior, conduzindo-se 2 plantas por vaso.

O sistema de irrigação utilizado foi por gotejamento com mangueira de polietileno de diâmetro externo de 16 mm. Utilizaram-se emissores tipo botão autocompensante de vazão média 2,0 L h^{-1} conectados a distribuidores com 2 saídas e fixadas por uma haste tipo flecha por vaso e pressão de operação de 10 mca. O coeficiente de uniformidade de distribuição (CUD) foi calculado e o resultado encontrado foi de 98%, classificado como excelente segundo classificação proposta por Bernardo et al. (2006).

O manejo da irrigação foi feito via solo através do uso de seis tensiômetros por parcela experimental, instalados na profundidade de 0,15 m, totalizando-se 12 tensiômetros no ensaio. O monitoramento da tensão de água no solo foi feito diariamente com o auxílio de um tensímetro digital de punção e os valores de tensão convertidos em umidade volumétrica com base na equação de ajuste da curva de retenção de água no solo. O ajuste da curva de retenção de água no solo (Figura 3) foi realizado pelo modelo proposto por Van Genuchten (1980).

Inicialmente todas as combinações de tratamentos receberam a mesma lâmina de água, elevando-se a umidade do solo a tensão de 10 kPa considerada como tensão correspondente a umidade controle, próximo da capacidade de campo. A diferenciação das lâminas de irrigação nas parcelas ocorreu no início do florescimento da cultura aos 35 dias após a emergência (DAE). A escolha desse período para início dos tratamentos com deficiência hídrica foi em função da mudança da fase fenológica de crescimento vegetativo para fase reprodutiva.

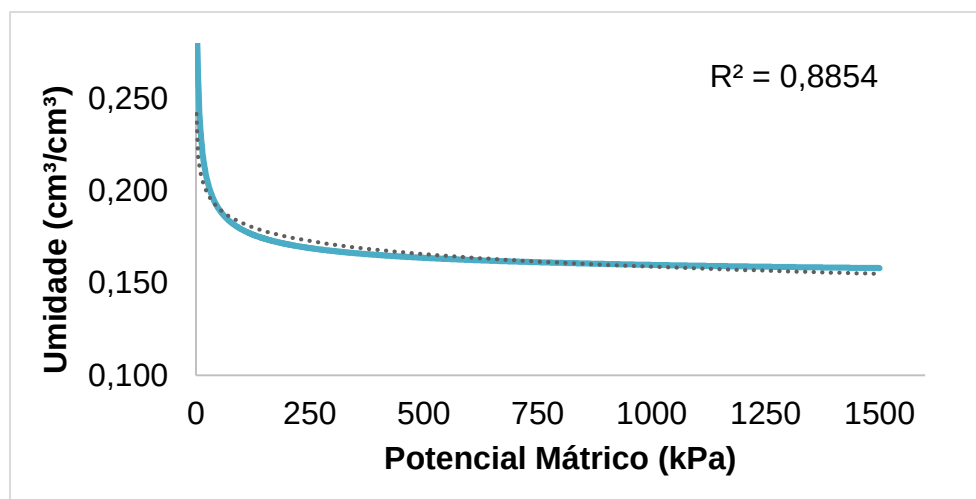


Figura 3: Curva de retenção de umidade volumétrica do solo

Para tratamento fitossanitário foi feita uma única aplicação do inseticida Orthene 750 BR na dose de 1 Kg ha^{-1} e duas aplicações do fungicida Cerconil WP na dose de 2 Kg ha^{-1} conforme recomendações do fabricante. O controle das plantas daninhas foi feito manualmente. Foi detectado deficiência nutricional de zinco no estágio fenológico V4, a qual foi corrigida com a aplicação via solo de 1 Kg ha^{-1} de Sulfato de zinco diluído em água.

Anterior ao momento da colheita a irrigação foi suspensa em ambos os tratamentos para secagem dos grãos na planta. A suspensão ocorreu quando por senescência as plantas perderam quase a totalidade das folhas e as vagens estavam completamente formadas. A colheita dos tratamentos submetidos a DH ocorreu aos 77 DAE e do tratamento controle, onde manteve-se a umidade do solo sempre próximo a capacidade de campo, foi aos 84 DAE. A colheita das vagens e a separação dos grãos foi feita manualmente.

As avaliações foram divididas em dois períodos durante o ciclo da cultura, sendo a primeira coleta aos 26 DAE, anterior ao período de diferenciação das lâminas de irrigação (pré-florescimento, estágio fenológico R5) e a segunda avaliação foi feita aos 56 DAE (enchimento de grãos, estágio fenológico R8). A avaliação do sistema radicular foi feita na segunda época de avaliação aos 56 DAE. Para cada época de avaliação foi utilizado uma planta por repetição. As coletas ocorreram no início da manhã. Ao fim do experimento foi feita a coleta das vagens e

estimativa de produtividade para os tratamentos, para a qual utilizou-se a média de seis plantas por repetição.

As variáveis analisadas foram diâmetro do caule; número de folhas; área foliar, biomassa seca das folhas, caule, raiz e total; comprimento, diâmetro e volume radicular; contagem de vagens e grãos por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 grãos, massa de grãos por planta, estimativa da produtividade (kg ha^{-1}).

A determinação do diâmetro do caule foi com auxílio de um paquímetro digital (mm) a aproximadamente 1,5 cm a partir da superfície do solo. Para número de folhas e área foliar foram coletadas todas as folhas de uma planta, contabilizadas e mensurada a área foliar por auxílio de integrador modelo LICOR LI- 3000. Os resultados foram expressos em $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$. Posteriormente para obtenção da biomassa seca da planta, as amostras foram levadas a estufa com circulação de ar forçado a $60 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5$ até peso constante.

Para avaliação da morfologia radicular na segunda época de coleta (R8), coletou-se o sistema radicular de uma planta por repetição em cada tratamento. As raízes foram lavadas e logo após foram acondicionadas em frascos de vidro com solução de álcool 70%, cobrindo totalmente as raízes e armazenadas em geladeira para posterior avaliação das estruturas radiculares com o auxílio do software *WinRhizo*.

Após a colheita os grãos foram separados das vagens manualmente, contabilizados e posteriormente pesados. Os parâmetros de produção avaliados foram contagem de vagens e grãos por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 grãos, massa de grãos por planta (g) e estimado a produtividade (Kg/ha) considerando uma população de 240 mil plantas por hectare e a umidade dos grãos corrigida para 13 % em todos os tratamentos. A umidade dos grãos após a colheita foi obtida pelo método da estufa a $105 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas e os dados expressos em porcentagem (base úmida) (Brasil, 2009).

Para realização da análise estatística os dados obtidos foram submetidos inicialmente ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov com o auxílio do software Minitab 17 e confirmada a normalidade dos dados, os mesmos foram submetidos a análise de variância e quando significativos foi aplicado o teste Tukey para comparação das médias ao nível de 5 % de probabilidade através do software AgroStat.

1.3. RESULTADOS

Na figura 4 é apresentado o gráfico do monitoramento da tensão de água no solo (kPa) durante todo o período experimental. É possível observar a diferença nas leituras de acordo com os tratamentos hídricos após o início da diferenciação das lâminas de irrigação, que ocorreu aos 35 DAE, no dia 04/10/2018. Para o tratamento controle a média de tensão durante o período experimental foi de 16 kPa, valor de tensão próximo a capacidade de campo do solo utilizado e para o tratamento DHM o valor médio de tensão de água no solo foi de 50 KPa. A lâmina de irrigação total aplicada durante o ensaio para o tratamento controle foi de 225 mm e para o tratamento sob irrigação deficitária foi de 124 mm.

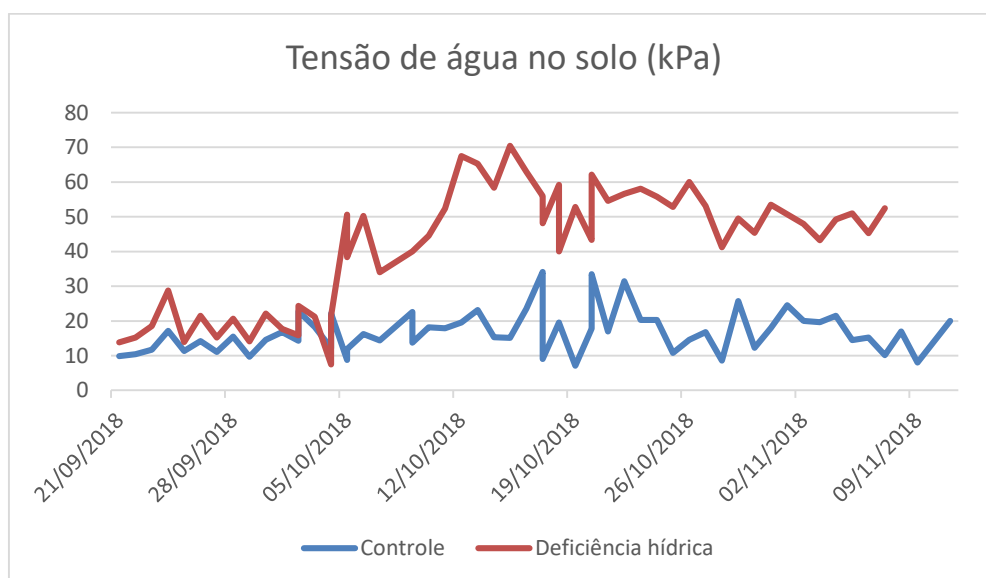


Figura 4: Monitoramento da tensão de água no solo durante o período experimental

Para a variável diâmetro de caule (Tabela 1) não houve efeito significativo na primeira época de avaliação ($p > 0,05$), correspondente ao período anterior a diferenciação das lâminas de irrigação no estágio fenológico R5, para nenhum dos tratamentos aplicados. Após a diferenciação das lâminas de irrigação, com a imposição da condição de DH (56 DAE), esta variável foi influenciada apenas pelas lâminas de irrigação. A lâmina de DHM (40 kPa) apresentou plantas com diâmetro de caule cerca de 15% menores quando comparado às plantas irrigadas com a lâmina controle (10 kPa). Estes resultados demonstram que a DH causou prejuízo no crescimento do caule sendo que o uso de bioestimulantes não foi eficiente para mitigar o efeito do estresse.

Tabela 1 - Diâmetro de caule (mm) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	4,28 ^{NS}	3,68	3,85	3,93	C	6,71	6,41	6,03	6,38 a
C	4,31	3,75	3,85	3,97	DHM	5,22	5,65	5,36	5,41 b
Média	4,29	3,71	3,85		Média	5,96 A*	6,02 A	5,69 A	
CV Parcela (%)	6					6			
CV Subparcela (%)	12					10			

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade;

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Durante o ciclo da cultura, mediu-se o número de folhas totais (Tabela 2) e não foi detectado efeito significativo para as épocas de avaliação. Em relação a variável área foliar (Tabela 3), encontrou-se diferença significativa ($p < 0,05$) para os tratamentos com bioestimulantes na primeira avaliação. As plantas do tratamento controle (B1) apresentaram maior média, cerca de 30 % superior ao tratamento B2 e 25 % em relação ao tratamento B3, embora essa média não tenha sido diferente do tratamento B3. Na segunda época de avaliação, foi encontrado significância apenas para o efeito principal lâminas de irrigação. Constatou-se então, que a DH resultou em redução na área foliar em cerca de 37 % quando comparada a condição de irrigação plena. Os tratamentos com bioestimulantes não influenciaram esta variável, mas foi possível observar que os tratamentos B2 e B3 apresentaram reduções de aproximadamente 6 % e 13 % respectivamente quando comparado com o tratamento B1.

Tabela 2 - Número de folhas na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	6 ^{NS}	5	6	5	C	22 ^{NS}	26	23	23
C	6	5	5	5	DHM	16	17	17	17
Média	6	5	5		Média	19	21	20	
CV Parcela (%)	10				26				
CV Subparcela (%)	21				14				

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 3 - Área foliar total (cm²) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	758	516	628	634 a	C	3350	2912	2872	3045 a
C	826	590	565	660 a	DHM	1963	2083	1735	1927 b
Média	792A	553B	596 AB		Média	2657A	2497A	2304 A	
CV Parcela (%)	24				31				
CV Subparcela (%)	25				24				

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

A análise de massa seca das folhas (MSF) resumida na Tabela 4 denota diferença significativa apenas para o efeito principal de bioestimulantes na primeira avaliação. Para os tratamentos de bioestimulantes, as plantas do tratamento B1 apresentaram maior média, sendo 31 % superior ao tratamento B2 e 19 % em relação ao B3. Aos 56 DAE - segunda avaliação, encontrou-se efeito significativo apenas para os tratamentos de lâminas de irrigação, onde a DH causou redução de

42 % nesse parâmetro, comparado às plantas do controle. Os tratamentos B1, B2 e B3 não diferiram estatisticamente na segunda época de avaliação.

Tabela 4 - Massa seca da folha (g planta⁻¹) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	1,9	1,3	1,7	1,6 a	C	9,0	8,1	8,3	8,5 a
C	2,2	1,5	1,5	1,7 a	DHM	5,1	5,1	4,5	4,9 b
Média	2,0 A	1,4 B	1,6 AB		Média	7,0 A	6,6 A	6,4 A	
CV Parcela (%)	17					37			
CV Subparcela (%)	24					25			

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

A massa seca caule (MSC) apresentada na Tabela 5 foi influenciada pelos tratamentos com bioestimulantes na época de avaliação 1, sendo o tratamento B1 o que apresentou maiores médias. Já na avaliação 2 é possível observar que apenas as lâminas de irrigação influenciaram significativamente a MSC, com a lâmina controle sendo 42 % superior ao tratamento de DH. Ainda na segunda época de avaliação observa-se que os bioestimulantes não influenciaram a massa seca do caule do feijoeiro.

A massa seca da raiz (MSR) (Tabela 6) na época de avaliação 1 foi influenciada pelos tratamentos de bioestimulantes. O tratamento B1 foi o que apresentou maior média, não diferindo estatisticamente de B2, já B3 foi o que apresentou o pior desempenho, com média 40 % menor que o tratamento controle. Na segunda avaliação não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos.

Tabela 5 - Massa seca do caule (g planta⁻¹) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	0,8	0,5	0,6	0,64 a	C	11,2	9,5	9,7	10,1 a
C	0,9	0,5	0,6	0,66 a	DHM	6,0	6,2	5,3	5,9 b
Média	0,8 A	0,5 B	0,6 AB		Média	8,6 A	7,9 A	7,5 A	
CV Parcela (%)				20					34
CV Subparcela (%)				33					24

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 6 - Massa seca da raiz (g planta⁻¹) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	0,5	0,4	0,4	0,46 a	C	2,5 ^{NS}	2,7	2,4	2,5
C	0,7	0,4	0,3	0,47 a	DHM	1,7	1,5	1,3	1,5
Média	0,6 A	0,4 AB	0,4 B		Média	2,1	2,1	1,9	
CV Parcela (%)				27					41
CV Subparcela (%)				34					30

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

* Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Para a massa seca total (MST) (Tabela 7) observou-se comportamento similar ao aos parâmetros apresentados anteriormente, na primeira avaliação. Igualmente, as variáveis da partição de biomassa foram alteradas no efeito principal dos bioestimulantes sendo que o controle (B1) apresentou maiores médias. Entretanto, não diferiram de B3 ao nível de 5% pelo teste Tukey. Na segunda época de avaliação, para obtenção da MST foi contabilizada a massa seca das vagens verdes

já formadas até o período da coleta. Os resultados apresentados na Tabela 6 indicam que houve efeito significativo para os tratamentos hídricos, com redução de 45 % no acúmulo de biomassa total quando as plantas foram submetidas à condição de DH.

Tabela 7 - Massa seca total (g planta⁻¹) na cultura do feijoeiro cv. IAC Imperador, em duas épocas de avaliação (26 e 56 DAE) e efeito da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas). A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE

Tratamento	26 DAE				Tratamento	56 DAE			
	B1	B2	B3	Média		B1	B2	B3	Média
C	3,2	2,2	2,7	2,7 a	C	26,44	20,34	20,48	22,42 a
C	3,7	2,4	2,5	2,9 a	DHM	12,78	12,88	11,15	12,27 b
Média	3,5 A	2,3 B	2,6 AB		Média	19,61A	16,61A	15,81A	
CV Parcela (%)				18					51
CV Subparcela (%)				25					35

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

* Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

A avaliação da morfologia radicular está apresentada na Tabela 8. Após o escaneamento de raízes e tratamento da imagem pelo software *WinRhizo*, é possível avaliar que o comprimento das raízes alterou devido aos tratamentos aplicados. Houve efeito significativo para lâminas de irrigação em relação ao diâmetro e volume radicular. Para essas medidas, as plantas do controle, onde a umidade do solo foi mantida próxima a capacidade de campo, apresentou maiores médias, diferindo da lâmina deficitária. Com relação aos tratamentos com bioestimulantes não houve efeito significativo para nenhuma das variáveis. Entretanto, de maneira geral, foi possível observar que as maiores médias correspondem ao tratamento B3, com destaque para o volume radicular, o qual foi aproximadamente 18 % superior ao controle (B1) e 20 % superior a B2.

Tabela 8 - Morfologia radicular em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + Bioenergy) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE

Tratamento	Comprimento (cm)			
	B1	B2	B3	Média
C	2638,9 ^{NS}	2134,8	2360,3	2378
DHM	1927,5	2042,9	2386,8	2119
Média	2283,2	2088,8	2373,5	
Tratamento	Diâmetro (mm)			
	B1	B2	B3	Média
C	0,690	0,760	0,790	0,74 a
DHM	0,590	0,560	0,580	0,58 b
Média	0,64 A	0,66 A	0,68 A	
Tratamento	Volume (cm ³)			
	B1	B2	B3	Média
C	9,8	9,6	11,6	10,3 a
DHM	5,3	5,1	6,6	5,7 b
Média	7,5 A	7,3 A	9,1 A	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

* Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Os componentes da produção e a produtividade estão apresentados na Tabela 9. Para número de grãos por vagem e massa de 100 grãos não houve efeito significativo ($p > 0,05$) com a aplicação dos tratamentos. Já para número de vagens por planta, grãos por planta, massa de grãos por planta foi observado que as lâminas de irrigação influenciaram significativamente. Para essas variáveis, a lâmina de irrigação deficitária foi responsável pela redução de 45%, 46 % e 50 % respectivamente quando comparada com o tratamento controle. Por outro lado, os tratamentos com os bioestimulantes não apresentaram efeito para essas medidas. Esses resultados podem refletir na produtividade, considerando-se que tratamento de DH induziu um decréscimo de 50 % na produtividade média total.

Tabela 9 - Parâmetros de rendimento, produtividade do feijoeiro em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + Bioenergy) e lâminas de irrigação

Tratamento	Vagens planta ⁻¹			
	B1	B2	B3	Média
C	19,25	18,5	18,5	18,75 a
DHM	10	10,75	10,25	10,33 b
Média	14,62 A	14,62 A	14,37 A	
Tratamento	Grãos planta ⁻¹			
	B1	B2	B3	Média
C	84,25	77	80,75	80,67 a
DHM	42,25	44	43,75	43,33 b
Média	63,25 A	60,5 A	62,25 A	
Tratamento	Nº de grãos vagem ⁻¹			
	B1	B2	B3	Média
C	4,4 ^{NS}	4,2	4,4	4,36
DHM	4,3	4,2	4,3	4,28
Média	4,4	4,2	4,4	
Tratamento	Massa de grãos planta ⁻¹ (g)			
	B1	B2	B3	Média
C	19,02	17,42	18,59	18,34 a
DHM	9,4	9,07	9,29	9,26 b
Média	14,21 A	13,24 A	13,93 A	
Tratamento	Massa de 100 grãos			
	B1	B2	B3	Média
C	22,6 ^{NS}	22,6	23,0	22,7
DHM	22,3	20,6	21,3	21,4
Média	22,5	21,6	22,1	
Tratamento	Produtividade (kg/ha)			
	B1	B2	B3	Média
C	4564,9	4179,7	4460,5	4401,7 a
DHM	2257,1	2175,6	2228,7	2220,4 b
Média	3411A	3177,7 A	3344,6 A	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

* Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE, Dias após a emergência; C, lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM, lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

1.4. DISCUSSÃO

A imposição da deficiência hídrica resultou em redução significativa no diâmetro do caule (Tabela 1). A redução na disponibilidade de água pode afetar as atividades fisiológicas e metabólicas nas plantas que alteram características morfológicas especialmente naquelas relacionadas ao crescimento (CHAI et al., 2016). Segundo Padilha et al. (2016) a redução no crescimento ocorre devido ao decréscimo da turgescência celular, o qual é um fator relacionado diretamente à

expansão das células. Assim, de forma global, eventos de DH induzem às menores taxas de crescimento.

Apesar de não ter sido encontrado diferença significativa ($p > 0,05$) para número de folhas, foi possível notar tendência na redução em resposta ao estresse (Tabela 2). Essa redução foi observada de maneira significativa para área foliar, quando estabeleceu-se a diferenciação das lâminas de irrigação (Tabela 3). Esses resultados demonstram que, uma menor disponibilidade de água no solo pode afetar o desenvolvimento de novas folhas, acelerando a senescência foliar, além de retardar o crescimento das folhas remanescente (EMAM et al., 2010).

Mathobo et al. (2017) observaram redução na área foliar em feijoeiro submetido a diferentes condições de estresse hídrico e durante diferentes fases fenológicas. O mesmo efeito foi encontrado por Soureshjani et al. (2019) também para feijoeiro mantido sob DH. As plantas exercem esse artifício morfológico de redução da área foliar, como alternativa e/ou estratégia para reduzir a área de transpiração e, por consequência, minimizar as perdas de água para o ambiente. Quando o estresse físico é muito severo, as plantas em estágio de desidratação prolongada não conseguem manter nem recuperar sua área foliar. Dessa forma, reduzem a área de interceptação de luz e as atividades metabólicas essenciais, o que eventualmente resulta em morte da planta. (SAHOO et al., 2013).

No presente ensaio, a redução no número de folhas e área foliar com a imposição da DH, refletiram na biomassa seca das folhas (Tabela 4), a qual apresentou redução em comparação com a lâmina de irrigação das plantas controle (10 kPa). Comportamento similar foi observado para matéria seca do caule (Tabela 5), para matéria seca da raiz (Tabela 6) e matéria seca total (Tabela 7). Os resultados indicam que a DH afetou o acúmulo de biomassa de maneira bastante significativa. A menor produção de matéria seca pode ser estar relacionada com a redução na área foliar total, alterando assim a superfície de interceptação de luz, e consequentemente em declínio na atividade fotossintética (MATHOBO et al., 2017).

Diversos autores relataram a redução no acúmulo de biomassa e crescimento em feijoeiro submetido a DH, sendo esta variável morfológica uma das mais afetadas por esta condição adversa. Esses efeitos variam em função do material genético (cultivar), estágio fenológico e intensidade do estresse (CHACÓN et al., 2019; SOURESHJANI et al., 2019; MATHOBO et al., 2017; EMAM et al., 2012).

Com base nas avaliações da morfologia radicular (Tabela 8) foi possível observar que os tratamentos sob DH não diferiram significativamente dos tratamentos do controle, para variável comprimento. Dentre as muitas características adaptativas desenvolvidas pelas plantas para suportar condições adversas, alterações na arquitetura radicular são consideradas umas das mais importantes (HUANG et al., 2014). As plantas quando submetidas a condições de estresse usam o mecanismo de induzir o crescimento radicular visando explorar maior área do solo e buscar água em regiões mais profundas. Dessa forma, essa variável tende a apresentar valores iguais ou superiores quando as plantas estão submetidas às condições ideais de umidade no solo (KHONGHINTAISONG et al., 2018; MITTAL et al., 2015). O volume e o diâmetro radicular foram menores nas lâminas deficitárias. Esses resultados demonstram que o cultivar em estudo utilizam como estratégia para adaptação a seca o direcionamento de mais energia e fotoassimilados para o comprimento, em detrimento do diâmetro e volume, com consequente aumento da capacidade de exploração do perfil do solo.

Apesar de não haver diferença significativa devido ao uso de bioestimulantes e desenvolvimento radicular, de maneira geral as médias desses tratamentos foram maiores quando comparadas ao controle, especialmente em relação ao tratamento B3. Diversos autores discutem que a associação de plantas, rizobactérias e extrato de algas parecem benéfica e induzem o crescimento radicular em resposta aos estresses ambientais, especialmente o hídrico (VURUKONDA et al., 2016; NGUMBI; KLOEPFER 2016; KASIM et al., 2013).

A diferenciação das lâminas de irrigação e a imposição da condição de deficiência hídrica para os tratamentos aplicados ocorreu no estágio fenológico correspondente ao início da fase de florescimento da cultura. A DH neste momento reduziu parâmetros de produção como o número de vagens por planta e de grãos por planta, quando comparado a condição controle (Tabela 9). Essa redução pode ser resultante do processo de senescência e abortamento de flores, uma vez que as plantas sob estresse reduzem o metabolismo fotossintético e acúmulo de fotoassimilados. Esses eventos, podem induzir a perda de viabilidade e senescência de flores. Comportamento semelhante foi observado por diversos autores (GHASSEMI et al., 2018; MATHOBO et al., 2017; REZENE et al., 2013; EMAM et al., 2012) também para a cultura do feijoeiro

Os componentes de produção como número de grãos por vagem e massa de 100 grãos não foram afetados pela deficiência hídrica. A variável número de grãos por vagem é uma característica inerente à cultivar e pode ser pouco afetada por variações ambientais moderadas, como foi o caso desse ensaio. Gohari (2013) argumenta que a massa de 100 grãos pode apresentar diminuição, quando plantas de feijoeiro são submetidas a estresses mais severos uma vez que, essas condições são responsáveis por acelerar a maturidade dos grãos além de resultar em grãos de pequeno porte e menor massa. No presente estudo a diferença de colheita foi pequena, de apenas sete dias, e o estresse imposto foi moderado, não causando redução significativa para massa de 100 grãos.

Todas as variações observadas nos componentes de produção do feijoeiro sob deficiência hídrica refletiram na massa de grãos por planta e consequentemente na produtividade total, a qual teve redução de aproximadamente 50 % para lâmina deficitária. A quantidade de perdas na produção com o estresse é variável com o genótipo, a intensidade e o tempo de exposição em que as plantas ficam expostas a condição estressante. A redução na produtividade do feijoeiro devido a deficiência hídrica foi reportada por diversos autores e estes reforçam que o florescimento e enchimento de grãos é o estágio fenológico mais sensível. Caso a redução na lâmina de irrigação seja imposta em período correspondente a fase de maturação dos grãos, as perdas de produtividade são menores facultando aos produtores, a adoção de estratégias de manejo da irrigação para economia de água e energia (CHACÓN et al., 2019; SOURESHJANI et al., 2019; GHASSEMI, et al., 2018; MATHOBO et al., 2017).

No presente estudo não houve efeito significativo dos tratamentos com bioestimulantes para as variáveis relacionadas com o crescimento, acúmulo de biomassa e componentes de produção do feijoeiro mantido sob deficiência hídrica. A intensidade do estresse, a forma de aplicação, características do microrganismo utilizado, concentração e as doses podem ter influenciado negativamente nos possíveis benefícios dos bioestimulantes no crescimento e rendimento das culturas agrícolas.

Alguns autores relatam que microrganismos benéficos respondem melhor as condições ambientais e apresentam maior capacidade de promoção de crescimento e de estimular as plantas quando estão em associação com outros organismos (SINGH et al., 2014). A estirpe utilizada no trabalho, *Bacillus amyloliquefaciens* BV

03, tanto no tratamento isolado ou associado ao extrato de algas não foi capaz de estimular as plantas em condições controle ou deficiência hídrica. Assim, a espécie utilizada não foi efetiva como promotora de crescimento, mesmo em associação com extrato de algas.

Kumar et al. (2016) estudaram o efeito sinérgico de *Pseudomonas putida* e *Bacillus amyloliquefaciens* em plantas de grão-de-bico submetidas a estresse hídrico. Nesse trabalho, os autores verificaram que a aplicação sinérgica de bioestimulantes tem melhor potencial para atuar na promoção do crescimento das plantas, sob condições de estresse hídrico quando comparado ao uso das estirpes individualmente. Já Kasim et al. (2013) estudaram o efeito da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* 5113 e *Azospirillum brasilense* NO40 em plantas de trigo submetidas DH. Os autores verificaram que a inoculação bacteriana melhorou o crescimento do trigo sob condições de seca, além de maior sobrevivência, pesos frescos e secos e teor de água. Os autores ainda relatam que as rizobactérias tem sido usado principalmente para promoção de crescimento, pois estimulam as plantas através de diferentes meios como a produção de reguladores de crescimento os quais interferem positivamente na produção das culturas. Resultados semelhantes foram encontrados por Naveed et al. (2014) para cultura do milho e Sarma e Saikia (2014) para feijoeiro.

Tais relatos encontrados na literatura, reforçam que o conhecimento da espécie a ser usada e da estirpe isolada é de grande importância para se alcançar os resultados esperados e trazer retorno no desenvolvimento e rendimento das culturas com o uso desta tecnologia.

1.5. CONCLUSÕES

Baseado na hipótese central formulada, não foi possível correlacionar o uso de bioestimulantes (rizobactérias e extrato de algas) com a mitigação dos efeitos da deficiência hídrica em plantas de feijoeiro comum. Também concluiu-se que a forma de aplicação isolada ou em associação com outro bioestimulante, não resultou em melhoria da eficiência das rizobacterias. Como objetivo geral, constatou-se a dependência da cultura quanto à disponibilidade de água e mesmo em intensidade moderada, esse estresse físico alterou todos os parâmetros avaliados em plantas de feijoeiro, além de promover a antecipação da colheita dos grãos em sete dias comparado a irrigação controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, T. E. A.; GONÇALVES, C.; PAT ERNIANI, M. E. A. Z. G.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. **Boletim 200: instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 7.ed. Campinas: IAC, 2014. 452 p.

ALVARES, C.A., STAPE, J.L., SENTELHAS, P.C., GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de Irrigação**. 8.ed. Viçosa: UFV, 2006. 625 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.

CHACÓN, D. P.; VALDIVIA, C. P.; GARCÍA-ESTEVA, A.; CAYETANO-MARCIAL, M. I.; SHIBATA, J. K. Phenotypic variation and biomass partitioning during post-flowering in two common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) under water restriction. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 98-104, 2019.

CHAI, Q.; GAN, Y.; ZHAO, C.; XU, H. L.; WASKOM, R. M.; NIU, Y.; SIDDIQUE, K. H. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 1, p. 3, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v.6, n.6, Brasília, Conab, 2019.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu, v. 14, n.1, p.1-11, 2009.

EMAM, Y.; SHEKOOFA, A.; SALEHI, F.; JALALI, A. H. Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. **American-Eurasian Journal of Agricultural Environmental Sciences**, v. 9, p. 495-499, 2010.

EMAM, Y.; SHEKOOFA, A.; SALEHI, F.; JALALI, A. H.; PESSARAKLI, M. Drought stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 58, n. 5, p. 527-534, 2012.

GHASSEMI, S.; FARHANGI-ABRIZ, S.; FAEGI-ANALOU, R.; GHORBANPOUR, M.; LAJAYER, B. A. Monitoring cell energy, physiological functions and grain yield in field-grown mung bean exposed to exogenously applied polyamines under drought stress. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 18, n. 4, p. 1108-1125, 2018.

GHASSEMI, S.; FARHANGI-ABRIZ, S.; FAEGI-ANALOU, R.; GHORBANPOUR, M.; LAJAYER, B. A. Monitoring cell energy, physiological functions and grain yield in field-grown mung bean exposed to exogenously applied polyamines under drought stress. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 18, n. 4, p. 1108-1125, 2018.

- GOHARI, A. A. Effects of water infiltration of soil on yield and water use efficiency of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Agronomy and Plant Production**, v. 4, n. 3, p. 459-463, 2013.
- GROVER, M.; MADHUBALA, R.; ALI, S. Z.; YADAV, S. K.; VENKATESWARLU, B. Influence of *Bacillus spp.* strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions. **Journal of basic microbiology**, v. 54, n. 9, p. 951-961, 2014.
- GUIRY, M. D. How many species of algae are there? **Journal of Phycology**, v. 48, n. 5, p. 1057-1063, 2012.
- HUANG, B.; DACOSTA, M.; JIANG, Y. Research advances in mechanisms of turfgrass tolerance to abiotic stresses: from physiology to molecular biology. **Critical reviews in plant sciences**, v. 33, n. 2-3, p. 141-189, 2014.
- JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal Agriculture and Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.
- KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM, I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. **Journal of plant growth regulation**, v. 32, n. 1, p. 122-130, 2013.
- KHONGHINTAISONG, J.; SONGSRI, P.; TOOMSAN, B.; JONGRUNGKLANG, N. Rooting and physiological trait responses to early drought stress of sugarcane cultivars. **Sugar Tech**, v. 20, n. 4, p. 396-406, 2018.
- KOBAYASHI, B. F.; GOMIDES, J. E.; SANTANA, M. J.; AMARAL, D. R.; BORGES, R. M. Relação do turno de rega com a incidência de doenças foliares em cultivares de feijão irrigado. **Revista Sodebras**, v.11, n. 127, 2016.
- KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? **Microbiological research**, v. 207, p. 41-52, 2018.
- KUMAR, M.; MISHRA, S.; DIXIT, V.; KUMAR, M.; AGARWAL, L.; CHAUHAN, P. S.; NAUTIYAL, C. S. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Signaling & Behavior**, v. 11, n. 1, 2016.
- MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v. 180, p. 118-125, 2017.
- MITTAL, V.; SINGH, N.; NARWAL, S.; MAMRUTHA, H.; TIWARI, V.; SHARMA, I. Effect of osmotic stress on root architecture and defensive system in wheat genotypes at seedling stage. **Journal of Wheat Research**, v. 7, n. 2, p. 52-59, 2015.
- NAVEED, M.; MITTER, B.; REICHENAUER, T.G.; WIECZOREK, K.; SESSITSCH, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by

Burkholderia phytofirmans PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. **Environmental and Experimental Botany**, v. 97, p. 30-39, 2014.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109-125, 2016.

PADILHA, N. S.; SILVA, C. J.; PEREIRA, S. B.; SILVA, J. A. N.; HEID, D. M.; BOTTEGA, S. P.; SCALON, S. P. Q. Crescimento inicial do pinhão-mansão submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 513-521, 2016.

REZENE, Y.; GEBEYEHU, S.; ZELLEKE, H.; 2013. Morpho-physiological response to post-flowering drought stress in small red seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. **Journal of Plant Studies**, v. 2, n. 1, p. 42, 2013.

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

SAHOO, K. K.; TRIPATHI, A. K.; PAREEK, A.; SINGLA-PAREEK, S. L. Taming drought stress in rice through genetic engineering of transcription factors and protein kinases. **Plant Stress**, v. 7, n. 1, p. 60-72, 2013.

SARMA, R.; SAIKIA, R. Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRJ21. **Plant and soil**, v. 377, n. 1-2, p. 111-126, 2014.

SOURESHJANI, H. K.; NEZAMI, A.; KAFI, M.; TADAYON, M. Responses of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v. 213, p. 270-279, 2019.

VAN GENUTCHEN, M.T. H. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. **Soil Science Society American Journal**, v. 41, p. 892-898, 1980.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

CAPÍTULO 2

USO DE BIOESTIMULANTES EM FEIJOEIRO SUBMETIDO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA COMO ESTRATÉGIA PARA MITIGAÇÃO DOS EFEITOS FISIOLÓGICOS DO ESTRESSE

Ícaro Monteiro Galvão, Fernando Broetto

RESUMO

O feijoeiro é uma planta sensível aos efeitos da deficiência hídrica (DH), sendo observadas alterações de ordem fisiológica e bioquímica, que influenciam no desenvolvimento da cultura. Biostimulantes vegetais são insumos que apresentam potencial para mitigação dos efeitos da DH na produção. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da DH, o potencial da aplicação de bioestimulantes na cultura do feijoeiro como mecanismo de tolerância ao estresse e a relação com alterações metabólicas devido aos efeitos do estresse. O ensaio foi conduzido em estufa agrícola, em Botucatu-SP, com feijoeiro comum cv. IAC Imperador, disposto em esquema de parcelas subdivididas em blocos casualizados, com 4 repetições. Os tratamentos nas parcelas corresponderam às lâminas de irrigação (10 kPa - Controle e 40 kPa- DHM) e nas subparcelas os bioestimulantes via tratamento de sementes (B1- controle; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas- *Ascophyllum nodosum*). O sistema de irrigação foi por gotejamento, sendo o manejo por tensiometria. As variáveis analisadas foram conteúdo relativo de água (CRA), pigmentos foliares, trocas gasosas, proteínas solúveis totais, L-prolina e atividade específica da enzima superóxido dismutase (SOD). A DH afetou negativamente alguns parâmetros, com destaque para os teores de clorofila a e componentes de trocas gasosas. Houve aumento no CRA, nos teores de prolina e atividade da SOD. Os bioestimulantes apresentaram efeito fotossintético, somente em plantas do controle (10 kPa), após o período de imposição do estresse. Nas demais avaliações e variáveis, não foram observados resultados significativos em função da aplicação de bioestimulantes.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. Trocas gasosas foliares. Metabolismo antioxidativo. Bactérias promotoras de crescimento. Manejo da irrigação.

USE OF BIOSTIMULANTS IN COMMON BEAN SUBMITTED TO WATER DEFICIENCY AS A STRATEGY FOR MITIGATION OF PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF STRESS

ABSTRACT

The common bean is a plant sensitive to the effects of water deficiency, being observed changes of physiological and biochemical order, which influence the development of the crop. Vegetable biostimulants are inputs that present potential to mitigate the effects of water deficiency on production. The objective of this work was to evaluate the impact of water deficit, the potential of the application of biostimulants in bean culture as a mechanism of stress tolerance and the relation with metabolic changes due to the effects of stress. The experiment was conducted in an agricultural greenhouse, in Botucatu-SP, with common bean cv. IAC Imperador, arranged in a scheme of plots subdivided into randomized blocks, with 4 replicates. The treatments in the plots corresponded to the irrigation levels (10 kPa - Control and 40 kPa-moderate water deficiency) and in the subplots the biostimulants by seeds treatment (B1- control; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + algae extract- *Ascophyllum nodosum*). The irrigation system was by drip irrigation, being the management by tensiometry. The analyzed variables were relative water content (RWC), leaf pigment content; gas exchanges, total soluble proteins, L-proline and specific activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD). The water deficit negatively affected some parameters, with emphasis on chlorophyll a and gas exchange components. There was an increase in RWC, proline levels and SOD activity. Biostimulants had a photosynthetic effect, only in control plants (10 kPa), after the period of imposition of stress. In the other evaluations and variables, no significant results were observed due to the application of biostimulants.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Leaf gas exchange. Antioxidative metabolism. Growth promoting bacteria. Irrigation management.

2.1. INTRODUÇÃO

O feijão juntamente com o arroz, compõe a base alimentar do brasileiro. Estima-se que a área total de feijão na safra 2018/2019 foi de aproximadamente 3 milhões de hectares, com produção estimada em 3,07 milhões de toneladas, uma queda em torno de 1,3 % comparado a safra anterior (CONAB, 2019). As áreas de produção de feijão no Brasil também abrangem regiões com baixos índices pluviométricos, reforçando a importância de conhecer o comportamento da cultura sob condições adversas, uma vez que o feijoeiro é uma planta sensível a deficiência hídrica. Estima-se que a necessidade hídrica por ciclo da cultura varia de 300 a 500 mm para alcançar grandes produtividades e, como nas demais espécies vegetais, o feijoeiro apresenta exigência por água de acordo com o estágio de desenvolvimento (YAGI et al., 2015).

O estresse por falta de água no solo é um dos grandes problemas enfrentados pela agricultura mundial e os cenários futuros de mudanças climáticas, com aumentos de temperatura e mudanças nos padrões de precipitação, deixam produtores ainda mais pessimistas (JOSHI et al., 2016). O estresse hídrico desencadeia uma ampla variedade de respostas dos vegetais, incluindo mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e em nível molecular (ZLATEV; LIDON, 2012; ANJUM et al., 2011) uma vez que, a falta de água no solo afeta negativamente o crescimento, a produtividade e a sobrevivência das plantas (LIU et al., 2019; DIAS et al., 2018).

Os efeitos e as respostas das culturas à condição de deficiência hídrica dependem da variedade, duração, intensidade do estresse e fase fenológica em que são submetidas (EMAM et al., 2010). Para o feijoeiro a fase de florescimento e enchimento de grãos são as mais sensíveis. Segundo Mathobo et al. (2017), se a deficiência ocorrer no final da estação de crescimento pode não causar danos significativos ao rendimento de grãos, indicando que com a irrigação apropriada é possível economizar água sem perdas de produção.

Nas culturas em geral a deficiência hídrica pode reduzir a fotossíntese, promover o fechamento dos estômatos, induzir a perda de pigmentos fotossintéticos e estresse oxidativo através da geração e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células (DIAS et al., 2018). As plantas desenvolveram vários mecanismos para evitar a formação de EROs ou dismutar as já formadas. Alguns

dos mecanismos estão relacionados ao metabolismo antioxidativo, enzimático e não enzimático, que podem neutralizar os radicais livres, reduzindo assim os danos associados (DIAS et al., 2014; PINTÓ-MARIJUAN; MUNNÉ-BOSCH, 2014). O grau de tolerância à seca para algumas culturas tem sido correlacionado com a capacidade antioxidante da espécie (PETRIDIS et al., 2012).

Outros mecanismos adotados pelas plantas para adaptação à seca incluem desenvolvimento do sistema radicular, ajustes na taxa de crescimento, modificações na estrutura da planta, utilização mais eficiente da água e ajuste osmótico (ANJUM et al., 2011). Essas mudanças no metabolismo vegetal podem ser potencializadas através do uso de produtos bioestimulantes, formulados a partir de microrganismos ou outro elemento organomineral. Dentre estes, destaca-se a inoculação das plantas (via solo ou semente) com diferentes espécies de rizobactérias, consideradas benéficas para as plantas.

As associações entre microrganismos e plantas podem favorecer a adaptação à seca, uma vez que de forma simbiótica ou não sugerem mudanças fisiológicas, permitindo melhores processos de floração, germinação, estabelecimento das plantas (HAYAT et al., 2010). Além disso, podem induzir ao aumento da eficiência da obtenção de nutrientes pelas plantas (PEDRAZA et al., 2010) e estímulo à produção hormonal, como auxinas, citocininas e giberelinas as quais aceleram processos de crescimento e desenvolvimento (VURUKONDA et al., 2016).

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo avaliar a hipótese da participação de bioestimulantes em processos de tolerância das plantas de feijoeiro submetidas a diferentes regimes hídricos. Para esse fim, foram monitorados parâmetros fisiológicos relacionados à produtividade fotossintética e relações hídricas, além da ativação de componentes do sistema de resposta antioxidativo das plantas.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em estufa agrícola com área de 60 m² no Departamento de Química e Bioquímica do IBB/UNESP – Distrito de Rubião Junior - Botucatu, SP. O clima segundo Koppen é classificado como temperado quente (mesotérmico) com precipitação média anual de 1.428 mm. A temperatura média

anual para a região é de 20,5 °C e umidade relativa variando entre 70% a 20% (ALVARES et al., 2013; CUNHA; MARTINS, 2009).

Para o monitoramento das condições climáticas durante o experimento foram feitas medidas de temperatura (Figura 1) e umidade relativa do ar (Figura 2) com o auxílio de termohigrômetro instalado na região central da estufa a uma altura do solo de aproximadamente 1,5 m e programado para realizar leituras a cada 30 minutos durante todo o período experimental e armazenadas em *datalogger*. A média de temperatura durante todo o período foi de 26 °C e de umidade relativa foi de 63,5 %, valores apropriados ao desenvolvimento do feijoeiro.

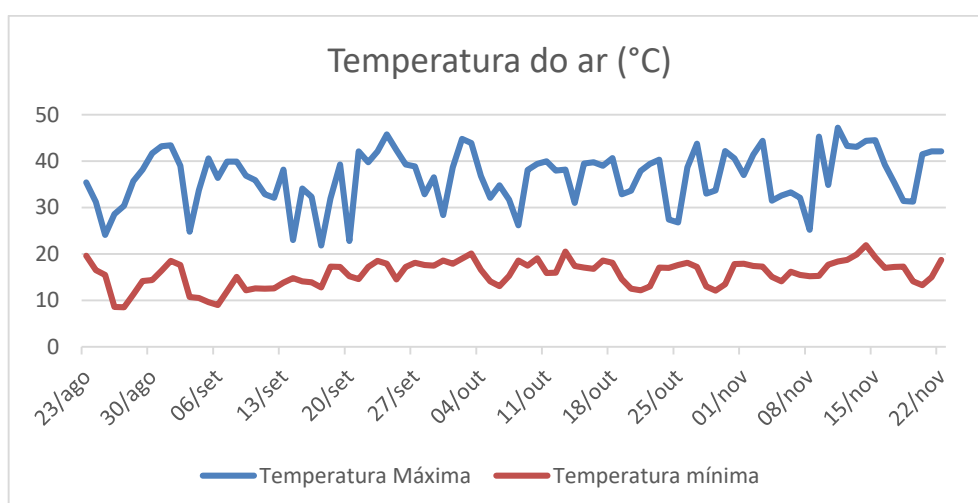


Figura 1: Temperatura do ar (°C) máxima e mínima no interior da estufa agrícola durante o período experimental.

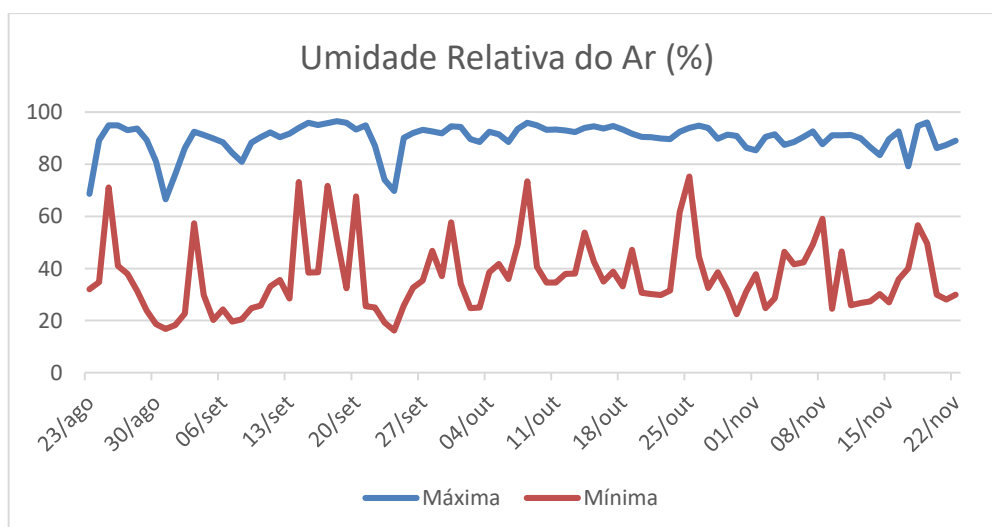


Figura 2: Umidade relativa do ar (%) máxima e mínima no interior da estufa agrícola durante o período experimental.

A cultivar de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) escolhida foi a cv. IAC Imperador, de ciclo precoce e tipo de crescimento determinado. Os tratamentos com plantas de feijoeiro foram dispostos em parcelas subdivididas, sendo alocado nas parcelas duas lâminas de irrigação (controle – umidade do solo elevada a tensão correspondente a 10 kPa e DHM – umidade do solo elevada a tensão correspondente a 40 kPa) e nas subparcelas três combinações de bioestimulantes (B1- controle; B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 (3×10^9 UFC mL⁻¹); B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas marrons *Ascophyllum nodosum*), em delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições e 10 plantas por repetição.

As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno com capacidade de 30 L, preenchidos com solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico de textura franco arenosa, com as seguintes características: M.O. = 7 g dm⁻³; pH (CaCl₂) = 4,2; P (resina.) = 2 mg dm⁻³; K⁺ = 0,4; Ca²⁺ = 12; Mg²⁺ = 2; H + Al = 28 e CTC = 41 mmol_c dm⁻³; S = 18; B = 0,19; Cu = 0,06; Fe = 11; Mn = 3,1; Zn = 0,4 mg dm⁻³; Areia total = 774; Argila = 177; Silte = 49 g kg⁻¹ e 33 % de saturação por bases. As adubações de plantio e cobertura seguiram as recomendações para cultura do feijoeiro para o estado de São Paulo conforme boletim 200 do IAC (Aguiar et al., 2014).

A aplicação dos tratamentos com bioestimulantes foram através de inoculação de sementes (TS) uma hora antes do plantio. Para o tratamento B1 o TS foi realizado com água destilada na dose 2 mL kg⁻¹ sementes, B2 – bioestimulante *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 na dose 2 mL kg⁻¹ sementes; B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + extrato de algas *Ascophyllum nodosum* na dosagem de 2 mL kg⁻¹ sementes cada. Após a inoculação realizou-se o plantio em 23/08/2018 com quatro sementes por vaso prevendo desbaste posterior, conduzindo-se 2 plantas por vaso.

O sistema utilizado foi por gotejamento com mangueira de polietileno com diâmetro externo de 16 mm. Utilizaram-se emissores tipo botão autocompensante de vazão média de 2,0 L h⁻¹ conectados a distribuidores com 2 saídas e fixadas por uma haste tipo flecha por vaso e pressão de operação de 10 mca. O coeficiente de uniformidade de distribuição (CUD) foi calculado e o resultado encontrado de 98 %, classificado como excelente segundo classificação proposta por Bernardo et al. (2006).

O manejo da irrigação foi feito via solo através do uso de seis tensiômetros por parcela experimental, instalados na profundidade de 0,15 m, totalizando-se 12 tensiômetros no ensaio. O monitoramento da tensão de água no solo foi feito diariamente com o auxílio de um tensímetro digital de punção e os valores de tensão convertidos em umidade volumétrica com base na equação de ajuste da curva de retenção de água no solo. O ajuste da curva de retenção de água no solo (Figura 3) foi realizado pelo modelo proposto por Van Genuchten (1980).

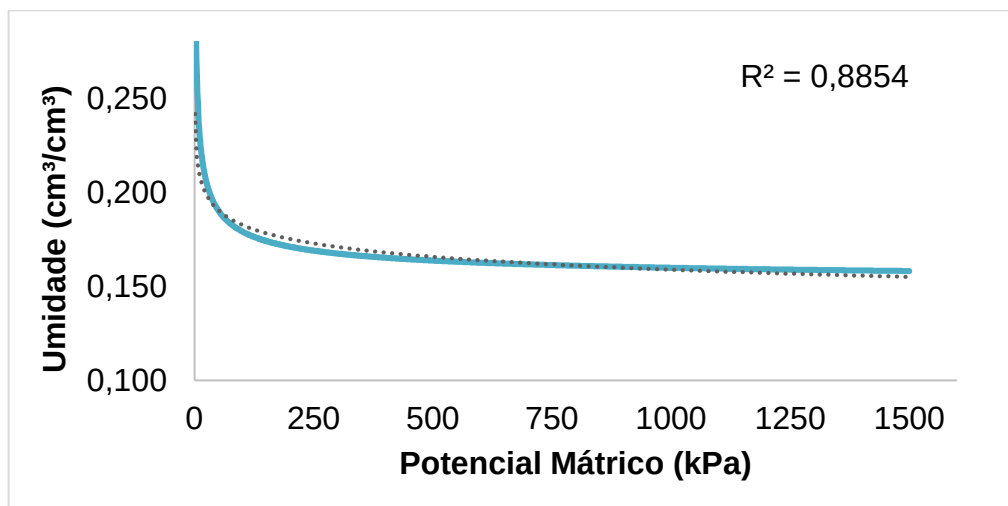


Figura 3: Curva de retenção de umidade do solo

Inicialmente todas as combinações de tratamentos receberam a mesma lâmina de água, elevando-se a umidade do solo a tensão de 10 kPa considerada como tensão correspondente a umidade controle, próximo capacidade de campo. A diferenciação das lâminas de irrigação nas parcelas ocorreu no início do florescimento da cultura aos 35 dias após a emergência (DAE). A escolha desse período para início dos tratamentos com deficiência hídrica foi em função da mudança da fase fenológica de crescimento vegetativo para fase reprodutiva.

Para tratamento fitossanitário foi feita uma única aplicação do inseticida Orthene 750 BR na dose de 1 Kg ha⁻¹ e duas aplicações do fungicida Cerconil WP na dose de 2 Kg ha⁻¹ conforme recomendações do fabricante. O controle das plantas daninhas foi feito manualmente. Foi observado deficiência nutricional de zinco no estágio fenológico V4, a qual foi corrigida com a aplicação via solo de 1 kg ha⁻¹ de Sulfato de zinco diluído em água.

As avaliações fisiológicas foram Conteúdo Relativo de Água (CRA) nas folhas, teor de pigmentos foliares (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides), fotossíntese

(A), condutância estomática (g_s), concentração interna de carbono (C_i) e transpiração (E). As avaliações bioquímicas corresponderam ao teor de proteínas solúveis total, atividade específica da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) e determinação do teor do aminoácido L-prolina.

Para as avaliações, CRA, teor de pigmentos e bioquímicas foram coletadas folhas sadias do terço médio das plantas aos 56 DAE, estágio fenológico R8, correspondente ao enchimento de vagens. As determinações das trocas gasosas foliares ocorreram em períodos diferentes das avaliações anteriores, sendo que para tal foram feitas um total de cinco medidas durante o ciclo da cultura. A primeira avaliação ocorreu aos 27 DAE, antes da imposição da DH (35 DAE), as demais avaliações foram feitas quando parte das plantas já estavam submetidas a irrigação deficitária e em estágio de crescimento de vagens e enchimento de grãos. Os períodos foram aos 47, 49, 52, 54 DAE.

O Conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado pela relação da massa de tecido vegetal fresco, turgido e seco conforme metodologia proposta por Barr e Weatherley (1962) (Equação 1):

$$CRA = [(MF - MS) / (MS - MT)] * 100 \quad (1)$$

Em que:

CRA- Conteúdo relativo de água;

MF - massa fresca (mg);

MT - massa túrgida (mg);

MS - massa seca (mg).

Para determinação do teor de pigmentos foliares, coletaram-se folhas no período da manhã e retirou-se discos foliares com diâmetro 1 cm². Cada disco foi mantido em 2 mL dimetilformamida por 24 h, para extração de clorofila (a, b) e carotenoides. Em seguida, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 480, 646,8 e 663,8. Os resultados obtidos foram expressos em µg cm⁻², conforme método de Lee et al. (1987).

As avaliações de trocas gasosas foliares foram realizadas no período de 9 às 11 h da manhã, em folhas completamente expandidas no terço médio das plantas. Para tal utilizou-se analisador portátil de gás infravermelho, modelo LI-COR 6400 IRGA (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Os parâmetros microclimáticos na câmara foram

mantidos constantes durante as medições realizadas nos diferentes tratamentos, usando 1000 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (MATHOBO et al., 2017) de PAR (*photosynthetic active radiation* - radiação fotossinteticamente ativa) e umidade relativa entre 50 e 60%. Mediram-se as seguintes variáveis: taxa de assimilação líquida de CO_2 (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s ; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração interna de carbono (C_i ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e transpiração (E ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Para a realização das análises bioquímicas, foram coletadas amostras foliares do terço médio de uma planta por repetição. Após a coleta, as folhas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C para posterior trituração.

As amostras foram processadas para obtenção de dois extratos diferentes: o primeiro, para as análises da concentração de proteínas e atividade enzimáticas, foi obtido pela ressuspensão de 300 mg do material vegetal moído em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,8 na presença de 300 mg de polivinilpolipirrolidona. O segundo extrato, para determinação do teor de L-prolina, foi obtido através da ressuspensão de tecido foliar (500 mg) em 10,0 mL de ácido sulfosalicílico (3% em água destilada).

A concentração de proteína solúvel total presente nos extratos foi determinada, utilizando-se o método descrito por Bradford (1976) com albumina de soro bovino (BSA) como proteína padrão.

O teor de L-prolina foi determinado utilizando-se o método de Bates et al. (1973). Para a realização do teste colorimétrico, pipetaram-se alíquotas de 2 mL do extrato bruto; 2,0 mL de ninhidrina ácida; 2,0 mL de ácido acético glacial. Após aquecimento em banho-maria fervente, resfriaram-se os frascos imediatamente com banho de gelo. A mistura de reação foi extraída com 4 mL de Tolueno e posteriormente foi feita leitura a 520 nm em espectrofotômetro. Como referência, utilizou-se curva padrão com (0, 20, 40, 60, 80 e 100 mg) de L-prolina p.a.

A atividade da SOD foi determinada pela adição de 30 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, conforme descrito por Del Longo et al. (1993). A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25°C . Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto formado pela fotoredução do NBT foi

determinado pelo incremento na absorção, feita por espectrofotometria com leituras a 560 nm. 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, considerou-se a percentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

2.3. RESULTADOS

Na figura 4 é apresentado o gráfico do monitoramento da tensão de água no solo (KPa) durante todo o período experimental. É possível observar a diferença nas leituras de acordo com os tratamentos hídricos após o início da diferenciação das lâminas de irrigação, que ocorreu aos 35 DAE, no dia 04/10/2018. Para o tratamento controle a média de tensão durante o período experimental foi de 16 kPa, valor de tensão próximo a capacidade de campo do solo utilizado e para o tratamento DHM o valor médio de tensão de água no solo foi de 50 KPa. A lâmina de irrigação total aplicada durante o ensaio para o tratamento controle foi de 225 mm e para o tratamento sob irrigação deficitária foi de 124 mm.

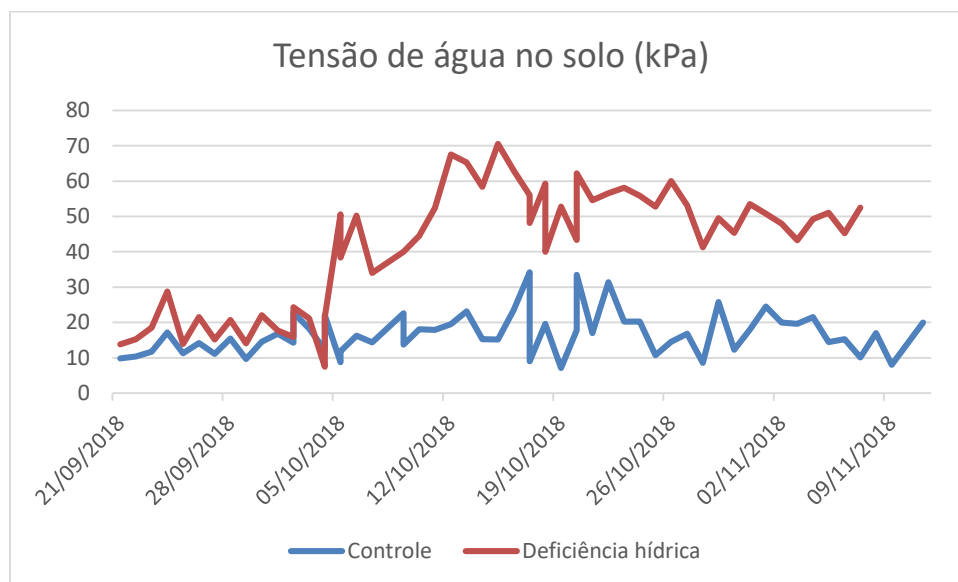


Figura 4: Monitoramento da tensão de água no solo durante o período experimental.

Os resultados para o conteúdo relativo de água (CRA) estão resumidos na Tabela 1 e indicam que o efeito principal das lâminas de irrigação foi diferente

estatisticamente ($p < 0,05$), sendo o tratamento correspondente à irrigação deficitária (40 kPa) o que apresentou maior média, cerca de 10 % superior ao controle. As plantas tratadas com bioestimulantes não alteraram os valores de CRA em média. Entretanto, B2 e B3 apresentaram valores maiores que o controle.

Tabela 1 - Conteúdo relativo de água (%) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	58,3	61,8	65,1	61,73 b
DHM	66,8	67,4	71,3	68,52 a
Média	62,54 A	64,62 A	68,20 A	

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Para a concentração de pigmentos, avaliou-se as concentrações de clorofilas (a e b) e teor de carotenoides. O teor de clorofila a (Tabela 2) sofreu alteração significativa em função da diferenciação das lâminas de água, sendo as plantas da lâmina controle as que apresentaram maior média de concentração do pigmento. Em relação a clorofila b e carotenóides (Tabelas 3, 4), não houve diferença entre os tratamentos.

Tabela 2 - Concentração de clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	12,3	12,3	12,7	12,6 a
DHM	10,0	11,9	10,9	10,9 b
Média	11,16 A	12,12 A	11,55 A	

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 3 - Concentração de clorofila *b* ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	4,65 ^{NS}	4,71	4,84	4,74
DHM	4,41	5,00	5,50	4,97
Média	4,53	4,85	5,17	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 4 - Concentração de carotenóides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	3,18 ^{NS}	2,81	3,10	3,03
DHM	2,40	2,89	2,78	2,68
Média	2,79	2,85	2,94	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Durante as fases de desenvolvimento da cultura, avaliou-se diferentes parâmetros de trocas gasosas com ênfase para o período de imposição da DH. As medidas de assimilação líquida de CO_2 (A), consideradas as mais importantes do ponto vista fisiológico, estão apresentadas na Tabela 5. Observou-se que na primeira época de avaliação (aos 27 DAE) não havia diferenças em A independentemente do tratamento, considerando-se que esse período foi anterior a diferenciação das lâminas de irrigação. Já na segunda avaliação (47 DAE), quando a DHM já havia sido iniciada, houve efeito significativo para a interação entre os tratamentos. Nessa avaliação, o aumento de A foi cerca de 40 e 32 % para os tratamentos B2 e B3, respectivamente, na lâmina de irrigação de controle (C) comparada ao tratamento com ausência de inoculação com bioestimulantes controle (B1). No caso da lâmina de DH, este efeito não foi observado entre os tratamentos. Ainda na avaliação 2, foi possível observar considerável redução nas taxas fotossintéticas quando as plantas foram submetidas a DHM. Comportamento similar foi observado para as avaliações posteriores (49, 52 e 54 DAE) quando a lâmina

controle apresentou maiores médias de *A* e os diferentes tratamentos com bioestimulantes não influenciaram a medida nestes períodos de avaliação.

Tabela 5 - Assimilação líquida de CO₂ (*A*; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação (C- controle; DHM- deficiência hídrica moderada) na cultura do feijoeiro em cinco épocas de avaliação. A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE.

Tratamentos	27 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	23,2 ^{NS}	21,7	22,2	22,3
C	20,2	21,2	18,3	19,9
Média	21,7	21,5	20,2	
Tratamentos	47 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	12,5 Ba	20,8 Aa	18,2 Aa	17,2
DHM	10,6 Aa	9,3 Ab	8,2 Ab	9,4
Média	11,6	15,0	13,2	
Tratamentos	49 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	20,9	20,0	17,9	19,6 a
DHM	5,8	4,8	6,4	5,7 b
Média	13,4 A	12,4 A	12,2 A	
Tratamentos	52 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	18,8	15,8	16,7	17,1 a
DHM	9,8	8,8	6,9	8,5 b
Média	14,3 A	12,3 A	11,8 A	
Tratamentos	54 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	17,6	17,2	15,7	16,8 a
DHM	9,5	8,9	11,2	9,8 b
Média	13,5 A	13,0 A	13,5 A	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Conforme descrito na metodologia, medidas de condutância estomática foram realizadas simultaneamente com *A*. Esta variável denota trocas gasosas

estabelecidas em nível de estômato e meio ambiente, mediando o processo de transpiração. Baseado em relatos anteriores, g_s pode indicar o status hídrico da planta, regulando seu conteúdo interno em função da disponibilidade no solo. No presente ensaio e, similar ao observado para A, na ausência de DH (27 DAE), g_s não apresentou alterações significativas para nenhum tratamento estudado (Tabela 6). Por outro lado, houve efeito significativo apenas para as lâminas de irrigação nas avaliações posteriores, sendo o tratamento controle o que apresentou maior valor de condutância estomática. Assim, demonstrou-se que a menor disponibilidade de água no solo induziu ao fechamento estomático das plantas, sendo a ação dos bioestimulantes pouco efetiva.

Ainda no mesmo conjunto de avaliação de trocas gasosas, estudou-se a transpiração (E) e conteúdo de carbono interno (C_i). A transpiração (E) não variou significativamente na avaliação 1 (27 DAE), conforme resumido na Tabela 7. Nas avaliações seguintes, houve o efeito principal para lâminas de irrigação, com maiores médias para o controle, nas avaliações 2, 4 e 5. Diferentemente, a avaliação 3 (49 DAE) apresentou interação significativa entre os tratamentos. De maneira geral, assim como nas demais avaliações, E foi reduzida em função da DH. Os tratamentos B1 e B2 foram superiores quando as plantas estavam sem restrição hídrica. Porém, quando submetidas a DH os tratamentos de bioestimulantes não diferiram entre si significativamente.

Tabela 6 - Condutância estomática (g_s ; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascochyllum nodosum*) e lâminas de irrigação (C- controle; DHM- deficiência hídrica moderada) na cultura do feijoeiro em cinco épocas de avaliação. A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE.

Tratamentos	27 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	0,512 ^{NS}	0,445	0,401	0,453
C	0,469	0,520	0,355	0,448
Média	0,491	0,482	0,378	
Tratamentos	47 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	0,469	0,498	0,338	0,435 a
DHM	0,077	0,066	0,057	0,067 b
Média	0,273 A	0,282 A	0,197 A	
Tratamentos	49 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	0,682	0,628	0,466	0,593 a
DHM	0,052	0,047	0,054	0,051 b
Média	0,367 A	0,338 A	0,260 A	
Tratamentos	52 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	0,272	0,245	0,306	0,274 a
DHM	0,080	0,065	0,049	0,065 b
Média	0,176 A	0,155 A	0,177 A	
Tratamentos	54 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	0,486	0,370	0,309	0,389 a
DHM	0,091	0,080	0,129	0,102 b
Média	0,288 A	0,228 A	0,219 A	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência. C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 7 - Transpiração (E ; mmol H₂O m⁻² s⁻¹) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação (C- controle; DHM- deficiência hídrica moderada) na cultura do feijoeiro em cinco épocas de avaliação. A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE.

Tratamentos	27 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	8,36 ^{NS}	8,08	7,56	8,0
C	8,03	8,43	6,55	7,67
Média	8,19	8,26	7,05	
Tratamentos	47 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	7,12	7,01	5,69	6,61 a
DHM	1,80	1,48	1,31	1,53 b
Média	4,56 A	4,24 A	3,50 A	
Tratamentos	49 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	9,97 Aa	9,58 Aa	6,61 Ba	8,72
DHM	1,65 Ab	1,54 Ab	1,69 Ab	1,63
Média	5,81	5,56	4,15	
Tratamentos	52 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	4,36	4,25	4,87	4,49 a
DHM	1,62	1,40	1,09	1,37 b
Média	2,99 A	2,82 A	2,98 A	
Tratamentos	54 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	7,68	6,53	5,69	6,63 a
DHM	2,24	2,13	2,96	2,45 b
Média	4,96 A	4,33 A	4,33 A	

NS- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência. C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Para primeira época de avaliação não houve efeito significativo para a concentração interna de CO₂ (C_i) (Tabela 8). Registrou-se apenas efeito significativo nas avaliações 2 e 4 para as lâminas de irrigação, com maiores médias para o controle. Na avaliação 3 houve significância para os tratamentos de bioestimulantes, sendo o B2 o que apresentou maior média. Observou-se ainda efeito para lâminas de irrigação, sendo a lâmina controle superior à DHM.

Para a avaliação 5 foi encontrado efeito significativo para a interação entre os tratamentos e observou-se comportamento semelhante às demais avaliações com

redução nos valores de C_i quando as plantas foram submetidas ao tratamento de DHM e não apresentaram diferença em relação aos tratamentos com bioestimulantes.

Tabela 8 - Concentração interna de carbono (C_i ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação (C- controle; DHM- deficiência hídrica moderada) na cultura do feijoeiro em cinco épocas de avaliação. A diferenciação das lâminas de irrigação com o estabelecimento da DHM, foi iniciada aos 35 DAE.

Tratamentos	27 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	278,13 ^{NS}	272,91	258,99	270,01
C	283,67	285,88	263,47	277,67
Média	280,90	279,39	261,23	
Tratamentos	47 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	314,0	266,9	255,5	278,79 a
DHM	143,9	131,2	132,4	135,83 b
Média	228,95 A	199,03 A	193,94 A	
Tratamentos	49 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	304,11	301,01	287,94	297,68 a
DHM	180,85	199,03	173,02	184,31 b
Média	242,48 AB	250,03 A	230,48 B	
Tratamentos	52 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	246,10	254,86	267,49	256,15 a
DHM	137,92	134,21	113,28	128,47 b
Média	192,01 A	194,53 A	190,39 A	
Tratamentos	54 DAE			
	B1	B2	B3	Média
C	296,75 Aa	272,58 Aa	266,78 Aa	278,69
DHM	189,14 Ab	193,24 Ab	218,17 Ab	200,22
Média	242,94	232,9	242,53	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência. C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

O teor de proteínas solúveis totais (Tabela 9) encontrados não diferiram estatisticamente entre os tratamentos com bioestimulantes e as lâminas de irrigação aplicada. Entretanto houve redução de cerca de 23% quando comparado a lâminas de irrigação controle. Os teores de L-prolina (Tabela 10) e a atividade específica da enzima SOD (Tabela 11) nos tecidos vegetais são considerados indicadores de

tolerância a estresses físicos, como a DH. Para essas variáveis houve diferença significativa em relação a lâminas de irrigação, sendo que a maior atividade da enzima SOD e acúmulo do aminoácido L-prolina ocorreram nos tratamentos sob irrigação deficitária (DHM).

Tabela 9 - Teor de proteína solúvel total (mg g^{-1} MF) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	11,09 ^{NS}	10,98	7,90	9,99
DHM	8,02	8,42	6,74	7,73
Média	9,55	9,70	7,32	

^{NS}- Não significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 10 - Teor de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	0,634	0,556	0,555	0,582 b
DHM	0,690	0,695	0,812	0,732 a
Média	0,662 A	0,625 A	0,684 A	

*Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

Tabela 11 - Atividade específica da SOD ($\text{UI } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em função da aplicação de bioestimulantes (B1- controle, B2- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03, B3- *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 + *Ascophyllum nodosum*) e lâminas de irrigação na cultura do feijoeiro aos 56 DAE.

Tratamentos	Bioestimulantes			
	B1	B2	B3	Média
C	1,636	1,719	1,965	1,773 b
DHM	2,409	2,817	2,750	2,659 a
Média	2,023 A	2,268 A	2,359 A	

*Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey. DAE - dias após a emergência; C- lâmina de irrigação com 10 kPa no solo; DHM - lâmina de irrigação com 40 kPa no solo.

2.4. DISCUSSÃO

Valores do conteúdo relativo de água - CRA (Tabela 1) indicam que as plantas de feijoeiros mantidas sob DH moderada apresentaram maior média quando comparado ao controle. Esses resultados podem estar associados regulação estomática das plantas sob estresse, diminuindo perdas de água dos tecidos, via transpiração. O CRA é considerado um dos melhores critérios para medir o *status* hídrico da planta, pois está diretamente envolvido com a atividade metabólica dos tecidos. Redução no CRA reflete perda no turgor celular, que indiretamente influencia na expansão celular e, conseqüentemente, menor crescimento de plantas (JALEEL et al., 2009). Soureshjani et al. (2019) estudando os efeitos do estresse hídrico moderado, considerado 80% da necessidade hídrica da cultura, em duas cultivares de feijoeiro e observaram redução no CRA nas folhas em resposta ao estresse. Estes resultados são opostos aos encontrados no presente estudo, sendo que diferenças na intensidade do estresse e outros fatores intrínsecos ao desenho experimental podem justificar resultados diversos.

No tocante a ação dos bioestimulantes, apesar de não haver diferença estatística, plantas tratadas com estes insumos apresentaram maiores médias de CRA, sendo indicativo de que os mesmos apresentam potencial para auxiliar as plantas a manter o turgor celular. Grover et al. (2014) relataram que plantas de sorgo tratadas com *Bacillus spp* KB 129 cultivados sob estresse hídrico apresentaram aumento de 24% no CRA, comparado as plantas não tratadas. Sarma e Saikia (2014) estudaram o efeito de bactérias do gênero *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*) e conferiram aumento no conteúdo relativo de água em feijoeiro mungu (*Vigna radiata*) cultivados em deficiência hídrica.

As avaliações dos teores de pigmentos indicam que a condição de deficiência hídrica imposta foi responsável pela redução dos teores de clorofila *a* nas folhas do feijoeiro. Ammar et al. (2015) também observaram o mesmo efeito para feijão fava e argumentam que o declínio pode ser devido ao dano oxidativo aos cloroplastos, que podem levar a destruição das moléculas de clorofila. Os pigmentos fotossintéticos são importantes para as plantas na absorção da energia luminosa e produção de potencial redutor durante o processo fotossintético (JALEEL et al., 2009). A clorofilas *a* e *b* são os mais importantes pigmentos fotorreceptores e os mais susceptíveis à degradação quando as plantas estão submetidas a deficiência hídrica. Assim, caso

esses pigmentos sejam degradados, pode haver influência negativa sobre as taxas fotossintéticas e consequentemente afetar o desenvolvimento e rendimento das culturas (FAROOQ et al., 2009).

As medidas de trocas gasosas relacionadas a assimilação líquida (A) apresentadas na Tabela 5 indicam que os bioestimulantes na avaliação 2 (47 DAE) foram capazes de influenciar positivamente as taxas de assimilação líquida do feijoeiro na ausência do estresse hídrico. Marcos et al. (2015) verificaram que bactérias endofíticas são capazes de aumentar as taxas fotossintéticas em cultivares de cana-de-açúcar na ausência de estresse. Naveed et al. (2014) para cultura do milho constatou que o uso de rizobactérias promotoras de crescimento foram capazes de promover aumento nas taxas fotossintéticas nas plantas em condições de estresse hídrico assim como na ausência de estresse. A capacidade das plantas em elevar as suas taxas fotossintéticas quando inoculadas com bactérias promotoras de crescimento foi discutida por diversos autores (KUMAR; VERMA, 2018; NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016).

Ainda sobre as medidas de trocas gasosas, observou-se redução significativa nas taxas de assimilação líquida de carbono (A) em plantas de feijoeiro na condição de DH nas avaliações 2, 3, 4 e 5 (47, 49, 52, 54 DAE respectivamente). A redução nas taxas fotossintéticas em plantas devido a imposição da deficiência hídrica para cultura do feijoeiro também foi observada por Sartori et al. (2019), Lanna et al. (2018) e Mathobo et al. (2017). Esses resultados podem estar associados em parte com a degradação das moléculas de clorofila conforme relatado e principalmente como resposta ao mecanismo de regulação estomática, que de fato foi detectado pela considerável redução na condutância estomática (g_s) nesses mesmos períodos avaliados (Tabela 6). O fechamento dos estômatos impede a entrada de carbono nas folhas e a assimilação do mesmo é diminuída em favor da fotorrespiração. Essa condição também foi reportada por Soureshjani et al. (2019) e Rosales et al. (2012) também para a cultura do feijoeiro.

O movimento de fechamento estomático nas plantas em situação de estresse hídrico é regulado pelo ácido abscísico (ABA). O ABA é produzido nas raízes e translocados para as folhas, onde controlam uma série de reações responsáveis pela regulação na pressão osmótica das células-guarda, responsáveis pela abertura e fechamento estomático (MEGA et al., 2019; VISHWAKARMA et al., 2017).

Além de influenciar nas taxas de fotossíntese do feijoeiro, a regulação estomática das plantas quando submetidas à condição de estresse hídrico afeta a transpiração (E), fator observado no presente estudo, conforme resumido na Tabela 7. Com exceção da avaliação 1, aos 27 DAE (antes da imposição da DHM), todas as demais medidas apresentaram reduções na transpiração foliar em resposta a DHM. As plantas de maneira geral quando estão submetidas a condições de DH tendem a reduzir as perdas de água para o ambiente por transpiração através do mecanismo de fechamento dos estômatos. O controle nas perdas de água é uma capacidade adaptativa dos vegetais para manter o conteúdo de água nas células e suas atividades metabólicas ativas durante o período em que a disponibilidade hídrica no solo é reduzida (TAIZ et al., 2017). Reduções nas taxas de transpiração em feijoeiros sob DH também são observadas por Sartori et al. (2019) e Mathobo et al. (2017).

A concentração interna de carbono (C_i) foi influenciada apenas pela DHM imposta as plantas, onde foi observado redução nos valores medidos após o início do estresse (Tabela 8). A taxa de C_i é regulada por fatores estomáticos e não estomáticos. Quando o estresse hídrico imposto é moderado ocorre a predominância da limitação estomática à fotossíntese pela redução na estrada de CO_2 nas folhas, resultando em baixos valores da C_i . Em situações de estresse severo, ocorre tendência de aumento na C_i nas células, devido a limitações na atividade fotossintética das plantas causadas por prejuízos nas reações fotoquímicas e bioquímicas deste processo (SHI et al., 2014). A diminuição na síntese de agentes redutores e ATP, do fornecimento diminuído de ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) e aumento da atividade da oxigenase da Rubisco, reduzem a eficiência da carboxilação e conseqüentemente favorecem o aumento na C_i (TAIZ et al., 2017). Lanna et al. (2018) avaliaram as trocas gasosas em folhas de diferentes cultivares de feijoeiro comum e também observaram variações na C_i com a imposição da deficiência hídrica.

As avaliações bioquímicas realizadas demonstram que o feijoeiro quando submetidas a DHM tem seu metabolismo alterado como estratégia para atenuar os efeitos deletérios do estresse. As reduções nos teores de proteínas solúveis (Tabela 9) totais apesar de não significativo demonstram que essa variável pode ser influenciada com a imposição da DH. Segundo Souza et al. (2015), com a progressão da DH, muitas enzimas proteolíticas parecem aumentar suas atividades

no meio celular. Este fator pode, em parte, explicar diminuições no teor de proteínas solúveis, também observado no presente estudo.

Durante o cultivo do feijoeiro, foi detectado o aumento no teor de L-prolina em folhas do feijoeiro com a imposição da DH (Tabela 10). O acúmulo de solutos orgânicos nas células vegetais é de certa forma desejável, como componente do ajustamento osmótico. Em condições de DH, esses osmólitos diminuem o potencial osmótico, favorecendo a absorção de água pelas células e tecidos e manutenção do turgor celular (ROSALES et al., 2012). Ammar et al. (2015) estudaram os efeitos do estresse hídrico em feijão fava e verificaram que esta condição aumentou os teores do aminoácido L-prolina.

A atividade específica da enzima superóxido dismutase (SOD) foi afetada pelos tratamentos hídricos, sendo observado maior atividade nas plantas sob DH. Durante o período em que as plantas estão submetidas à DH, pode haver aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são formas altamente prejudiciais as células. Ao serem produzidas, causam peroxidação lipídica, deterioração de membranas, danos as proteínas e modificações do DNA, podendo levar a morte celular (DIAS et al., 2018). Para controlar o nível de EROs e reduzir os efeitos associados ao estresse oxidativo, os tecidos vegetais sintetizam um complexo de enzimas antioxidativas, entre elas a SOD (DIAS et al., 2014; PINTÓ-MARIJUAN; MUNNÉ-BOSCH, 2014). A enzima SOD é a primeira enzima envolvida no sistema de defesa das plantas, atuando na dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (GILL; TUTEJA, 2010). Soureshjani et al. (2019) e Rosales et al. (2012) relataram aumento da atividade da SOD em cultivares de feijoeiros submetidas a DH.

Os tratamentos com bioestimulantes apesar de não diferirem significativamente nas avaliações bioquímicas, apresentaram maiores médias em B3 para L-prolina e SOD quando comparados ao controle. Diversos autores atribuem a capacidade das rizobactérias promotoras de crescimento no ajustamento osmótico e no metabolismo antioxidativo das plantas como um dos principais mecanismos utilizados para auxiliar os vegetais na tolerância a seca (KUMAR; VERMA, 2018; NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016).

Pesquisando o papel da rizobactéria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRI-SN13 na melhoria dos efeitos de diversos tipos de estresse físico, entre eles o hídrico, em plantas de arroz, Tiwari et al. (2017) observaram aumento nos teores de prolina em

comparado as plantas não inoculadas. Os autores comentam ainda que o acúmulo de osmólitos nas células aumenta a tolerância das plantas a condições de estresses. Sarma e Saikia (2014) observaram maior atividade de enzimas antioxidantes, entre elas a SOD, em feijoeiro mungu quando cultivado sob deficiência hídrica e inoculado com rizobactérias promotoras de crescimento. Os aumentos na atividade das enzimas antioxidativas nos vegetais sob condições de estresse estão relacionados com a capacidade dos mesmos em tolerar esta condição adversa do ambiente.

2.5. CONCLUSÕES

A imposição da deficiência hídrica moderada no feijoeiro promoveu maior degradação da clorofila *a* e afetou negativamente as trocas gasosas foliares. Promoveu aumento no CRA, juntamente como os teores de prolina e atividade da enzima SOD. Os tratamentos com bioestimulantes induziram ao aumento na fotossíntese na lâmina controle (10 kPa) aos 47 DAE. As demais variáveis não sofreram influência significativa com o uso dos bioestimulantes, demonstrando assim que os mesmos não apresentaram capacidade de atenuar os efeitos da DHM na cultura do feijoeiro nas condições de cultivo, doses testadas e época de imposição do estresse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, T. E. A.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. Z. G.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. **Boletim 200: instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 7.ed. Campinas: IAC, 2014, 452 p.
- ALVARES, C.A., STAPE, J.L., SENTELHAS, P.C., GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMMAR, M. H.; ANWAR, F.; EL-HARTY, E. H.; MIGDADI, H. M.; ABDEL-KHALIK, S. M.; AL-FAIFI, S. A.; FAROOQ, M.; ALGHAMDI, S. S. Physiological and yield responses of faba bean (*Vicia faba* L.) to drought stress in managed and open field environments. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 201, n. 4, p. 280-287, 2015.
- ANJUM, S. A.; XIE, X. Y.; WANG, L. C.; SALEEM, M. F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

- BARR, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. **Australian Journal Biological Sciences**, v.15, p.413-428, 1962.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.
- BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de Irrigação**. 8.ed. Viçosa: UFV, 2006. 625 p.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v.72 p. 248-254, 1976.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v.6, n.6, Brasília, Conab. 2019.
- CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu, v. 14, n.1, p.1-11, jan, 2009.
- DEL LONGO, O. T.; GONZÁLES, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v. 34, p. 1023-1028, 1993.
- DIAS, M. C.; CORREIA, S.; SERÔDIO, J.; SILVA, A. M. S.; FREITAS, H.; SANTOS, C. Chlorophyll fluorescence and oxidative stress endpoints to discriminate olive cultivars tolerance to drought and heat episodes. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 31-35, 2018.
- DIAS, M. C.; OLIVEIRA, H.; COSTA, A.; SANTOS, C. Improving elms performance under drought stress: The pretreatment with abscisic acid. **Environmental and experimental botany**, v. 100, p. 64-73, 2014.
- EMAM, Y.; SHEKOOFA, A.; SALEHI, F.; JALALI, A. H. Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. **American-Eurasian Journal of Agricultural Environmental Sciences**, v. 9, p. 495-499, 2010.
- FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: **Sustainable agriculture**. Springer, Dordrecht, p. 153-188, 2009.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxid dismutases. I. occurrence in Higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p.309-314, 1977.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 5, p. 1231-1240, 2011.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil Beneficial Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion: A Review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579–598, 2010.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

JOSHI, R.; WANI, S. H.; SINGH, B.; BOHRA, A.; DAR, Z. A.; LONE, A. A.; PAREEK, A.; SINGLA-PAREEK, S. L. Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1029, 2016.

KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? **Microbiological research**, v. 207, p. 41-52, 2018.

LANNA, A. C.; SILVA, R. A.; FERRARESI, T. M.; MENDONÇA, J. A.; COELHO, G. R. C.; MOREIRA, A. S.; VALDISSER, P. A. M. R.; BRONDANI, C. B.; VIANELLO, R. P. Physiological characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under abiotic stresses for breeding purposes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 31, p. 31149-31164, 2018.

LEE, J. H. W.; PERAIRE, J.; ZIENKIEWICZ, O. C. The Characteristic – Galerkin Method for Advection-Dominated Problems – An Assessment. **Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering**, v.61, p359-369. 1987.

LIU, B.; LIANG, J.; TANG, G.; WANG, X.; LIU, F.; ZHAO, D. Drought stress effects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of Juglans rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 230-235, 2019.

MARCOS, F. C. C.; IÓRIO, R. D. P. F.; SILVEIRA, A. P. D. D.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; LAGÔA, A. M. M. D. A. Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 1-9, 2016.

MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v. 180, p. 118-125, 2017.

MEGA, R.; ABE, F.; KIM, J. S.; TSUBOI, Y.; TANAKA, K.; KOBAYASHI, H.; CUTLER, S. R. Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors. **Nature plants**, v. 5, n. 2, p. 153, 2019.

NAVEED, M.; MITTER, B.; REICHENAUER, T.G.; WIECZOREK, K.; SESSITSCH, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. **Environmental and Experimental Botany**, v. 97, p. 30-39, 2014.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109-125, 2016.

PEDRAZA, R. O.; TEIXEIRA, K. R.; FERNÁNDEZ SCAVINO, A.; GARCÍA DE SALAMONE, I.; BACA, B. E.; AZCÓN, R.; BALDANI, V. L.; BONILLA, R. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. **Revisión. Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 11, n. 2, 2010.

PETRIDIS, A.; THERIOS, I.; SAMOURIS, G.; TANANAKI, C. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 79, p. 37-43, 2012.

PINTÓ-MARIJUAN, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Photo-oxidative stress markers as a measure of abiotic stress-induced leaf senescence: advantages and limitations. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 14, p. 3845-3857, 2014.

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

SARMA, R.; SAIKIA, R. Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRJ21. **Plant and soil**, v. 377, n. 1-2, p. 111-126, 2014.

SARTORI, F. F.; FERREIRA, A. C.; HERTZ, C. E. N.; OKAMURA, E. T.; FELISBERTO, G.; PESSOTTO, M. V.; SOAVE, J. M.; BARROS, L. P.; ALMEIDA, A. A. P.; SOUZA, K. M.; TEZOTTO, T.; BRENDLER, F. O.; REICHARDT, K.; DOURADO-NETO, D. Ethylene Production and Physiological Parameters in Common Bean Plants Under Water Deficit. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n.3, p. 301-310, 2019.

SHI, G.; ZHU-GE, F.; LIU, Z.; LE, L. Photosynthetic responses and acclimation of two castor bean cultivars to repeated drying–wetting cycles. **Journal of plant interactions**, v. 9, n. 1, p. 783-790, 2014.

SOURESHJANI, H. K.; NEZAMI, A.; KAFI, M.; TADAYON, M. Responses of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v. 213, p. 270-279, 2019.

SOUZA, L. C.; MELO, N. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SILVA, V. F. A.; OLIVEIRA NETO, C. F. Comportamento bioquímico no milho submetido ao déficit hídrico e a diferentes concentrações de silício. **Revista Agrarian**, Dourados, v.8, n.29, p.260-267, 2015.

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

TIWARI, S.; PRASAD, V.; CHAUHAN, P. S.; LATA, C. *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1510, 2017.

VAN GENUTCHEN, M.T. H. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. **Soil Science Society American Journal**, v. 41, p. 892-898, 1980.

VISHWAKARMA, K.; UPADHYAY, N.; KUMAR, N.; YADAV, G.; SINGH, J.; MISHRA, R. K.; SHARMA, S. Absciscic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: a review on current knowledge and future prospects. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 161, 2017.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

YAGI, R.; ANDRADE, D. S.; WAURECK, A.; GOMES, J. C. Nodulações e produtividades de grãos de feijoeiros diante da adubação nitrogenada ou da inoculação com *Rhizobium freirei*. **Revista Brasileira ciência do Solo**, v. 39. p. 1661-1670, 2015.

ZLATEV, Z.; LIDON, F. C. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 57-72, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste ensaio, cultivou-se o feijoeiro comum cv. IAC Imperador em estufa agrícola em sistema de irrigação por gotejamento. Foram aplicadas duas diferentes lâminas, sendo uma considerada controle onde elevou-se a umidade do solo a 10 kPa e uma segunda lâmina simulando deficiência hídrica moderada (DHM), com tensão de 40 kPa. Adicionalmente a estes tratamentos, avaliou-se o uso de bioestimulantes aplicados via tratamento de sementes, como mecanismo para atenuar os efeitos deletérios do estresse. Nesse ensaio, utilizou-se estirpes de *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 como rizobactéria promotora de crescimento bem como extrato de algas marrons da espécie *Ascophyllum nodosum*. As avaliações foram divididas em variáveis biométricas, relações hídricas, trocas gasosas, bioquímicas e componentes da produção.

A hipótese central da pesquisa foi demonstrar que os bioestimulantes poderiam auxiliar as plantas de feijoeiro proporcionando maior adaptação às condições de estresse e desta forma poderiam manter maiores taxas de crescimento e produção, quando comparado às plantas não tratadas. Entretanto o feijoeiro respondeu apenas aos tratamentos hídricos, com reduções nos parâmetros de trocas gasosas refletindo em perdas de cerca de 50 % no acúmulo de biomassa e na produção total. Sendo assim não foi possível confirmar a hipótese formulada para nenhum dos parâmetros analisados em resposta a deficiência hídrica.

Os bioestimulantes testados apenas promoveram aumento das taxas de fotossíntese em plantas na lâmina de irrigação controle. Estes resultados demonstram que o conhecimento da estirpe de bactéria a ser utilizada, da sua afinidade com determinadas culturas e a intensidade do estresse devem ser inicialmente consideradas.

Como perspectiva, os resultados sugerem novos testes com diferentes lâminas de irrigação, doses, formas de aplicação e a associação com outros organismos biológicos visando confirmar a eficiência no uso do *Bacillus amyloliquefaciens* BV 03 para a cultura do feijoeiro. Sendo assim trabalhos como este realizado, são de grande importância para validar novas tecnologias lançadas no mercado e garantir que o produtor venha a utilizar realmente produtos com eficiência comprovada.

REFERÊNCIAS

- ANJUM, S. A.; XIE, X. Y.; WANG, L. C.; SALEEM, M. F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v.6, n.6, Brasília, Conab. 2019.
- CRAMER, G. R. Response of abscisic acid mutants of *Arabidopsis* to salinity. **Functional Plant Biology**. 29: 561-67p. 2002.
- DIAS, M. C.; CORREIA, S.; SERÔDIO, J.; SILVA, A. M. S.; FREITAS, H.; SANTOS, C. Chlorophyll fluorescence and oxidative stress endpoints to discriminate olive cultivars tolerance to drought and heat episodes. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 31-35, 2018.
- DIAS, M. C.; OLIVEIRA, H.; COSTA, A.; SANTOS, C. Improving elms performance under drought stress: The pretreatment with abscisic acid. **Environmental and experimental botany**, v. 100, p. 64-73, 2014.
- EMAM, Y.; SHEKOOFA, A.; SALEHI, F.; JALALI, A. H. Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. **American-Eurasian Journal of Agricultural Environmental Sciences**, v. 9, p. 495-499, 2010.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 5, p. 1231-1240, 2011.
- GUIRY, M. D. How many species of algae are there? **Journal of Phycology**. Malden, v. 48, n. 5, p. 1057-1063, 2012.
- KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM, I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. **Journal of plant growth regulation**, v. 32, n. 1, p. 122-130, 2013.
- KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? **Microbiological research**, v. 207, p. 41-52, 2018.
- MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v. 180, p. 118-125, 2017.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**. V.59, p. 651-681. 2008.
- NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109-125, 2016.

PETRIDIS, A.; THERIOS, I.; SAMOURIS, G.; TANANAKI, C. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 79, p. 37-43, 2012.

PINTÓ-MARIJUAN, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Photo-oxidative stress markers as a measure of abiotic stress-induced leaf senescence: advantages and limitations. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 14, p. 3845-3857, 2014.

REJILI, M.; VADEL, A. M.; GUETET, A.; NEFFATTI, M. Effect of NaCl on the growth and the ionic balance K^+/Na^+ of two populations of *Lotus creticus* (L.) (Papilionaceae). **South African Journal of Botany**, v. 73, p. 623-631, 2007.

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

SKERRETT, M.; TYERMAN, S. D. A channel that allows inwardly directed fluxes of anions in protoplasts derived from wheat roots. **Planta**, v.192, p. 295-305, 1994.

TATTINI, M.; REMORINI, D.; PINELLI, P.; AGATI, G.; SARACINI, E.; TRAVERSI, M. L.; MASSAI, R. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. **New Phytologist**, v.170, p. 779-794, 2006.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

ZLATEV, Z.; LIDON, F. C. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 57-72, 2012.