

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DÉBORA REGIANE GOBATTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO SUBMETIDAS
A BAIXAS TEMPERATURAS DURANTE O FLORESCIMENTO**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2021

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

DÉBORA REGIANE GOBATTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO SUBMETIDAS
A BAIXAS TEMPERATURAS DURANTE O FLORESCIMENTO**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2021

DÉBORA REGIANE GOBATTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO SUBMETIDAS A
BAIXAS TEMPERATURAS DURANTE O FLORESCIMENTO**

**Characterization of bean cultivars submitted to low temperatures during
flowering**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área
de Concentração: Produção Vegetal da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientadora: Taciane Finatto

PATO BRANCO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite o download e o compartilhamento da obra desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-la ou utilizá-la para fins comerciais.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco



DEBORA REGIANE GOBATTO

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO SUBMETIDAS A BAIXAS TEMPERATURAS
DURANTE DO FLORESCIMENTO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Produção Vegetal.

Data de aprovação: 18 de Fevereiro de 2021

Prof.a Taciane Finatto, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Gabriela De Magalhaes Da Fonseca, Doutorado - Instituto Rio Grandense do Arroz - Irga

Prof.a Juliana Morini Kupper Cardoso Perseguini, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Sílvia Scariotto, Doutorado - Prefeitura Municipal de Pato Branco

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 18/02/2021.

Dedico este trabalho a meus pais, Luiz e Benilde.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por me abençoar tanto e permitir a conclusão dessa etapa.

À minha família, Luiz, Benilde, Cláudia, Evandra e Felipe, pelo apoio e incentivo. Pelos momentos de troca de conhecimento e distração. Tudo seria mais difícil sem vocês.

À minha orientadora, Taciane, pela paciência, compreensão e por me ensinar tanto.

Aos colegas de laboratório, por toda a ajuda no trabalho.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade e disponibilidade de infraestrutura e recursos.

A todos que, de alguma forma, me ajudaram e torceram por mim.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma.”
(Antoine Lavoisier)

RESUMO

GOBATTO, Débora Regiane. Caracterização de cultivares de feijoeiro submetidas a baixas temperaturas durante o florescimento. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2021.

O feijão tem grande importância nutricional, econômica e social, mas sua produção pode ser afetada por fatores climáticos adversos, como a ocorrência de baixas temperaturas. O estresse por resfriamento pode prejudicar a germinação e emergência da cultura, se ocorrer no início do ciclo, ou nos componentes do rendimento quando ocorrer na fase reprodutiva causando perdas de produtividade em ambos os casos. O objetivo do trabalho foi verificar a resposta de cultivares de feijão ao estresse por frio na fase de florescimento. Para isso, sete cultivares de feijão foram semeadas em vasos e cresceram em casa de vegetação com temperaturas entre 15 e 35 °C até estágio R6, quando metade dos vasos foi transferida para câmara climática para crescimento de plantas sob temperatura de 5 a 9 °C durante três dias, e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, o material vegetal foi coletado para análise das concentrações de açúcares solúveis totais, prolina e atividade enzimática. As plantas foram mantidas em casa de vegetação até a maturidade fisiológica, quando foram analisados seus componentes do rendimento. Foi realizado teste de agrupamento de médias para os caracteres fisiológicos e agrônômicos e análise de componentes principais. De maneira geral, o estresse por frio causou redução nos componentes de rendimento das cultivares, aumento da síntese de prolina e atividade enzimática da catalase. O componente do rendimento mais afetado pelo frio foi o número de legumes por planta. Uma menor atividade da enzima superóxido dismutase no frio proporciona maior tolerância das cultivares a esse estresse. BRSMG Madrepérola e IAC Imperador foram as cultivares mais sensíveis ao estresse por frio, apresentando a maior redução nos componentes do rendimento, enquanto que ANFc 9 e ANfp 110 foram as mais tolerantes, mostrando que possuem mecanismos adaptativos a baixas temperaturas.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Rendimento de cultivos agrícolas. Atividade e regulação de enzimas.

ABSTRACT

GOBATTO, Débora Regiane. Characterization of bean cultivars submitted to low temperatures during flowering. 58 f. Dissertation (Master in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop), Federal University of Technology - Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2021.

Common bean has great nutritional, economic and social importance, but its production can be affected by adverse climatic factors, such as the occurrence of low temperatures. Cold stress can impair the germination and emergence of the crop, if it occurs at the beginning of the cycle of the plants. When cold stress occur at the end of the cycle of the plants, the yield components can be directly affected. In both cases, losses in productivity can be observed. This work aimed to verify the response of common bean cultivars to cold stress during the flowering phase. For this, seven common bean cultivars were sown in pots and grown in a greenhouse with a temperature between 15 and 35 °C until the R6 stage, when half of the pots were transferred to a climatic chamber for plant growth under a temperature of 5 to 9 °C for three days, and a 12 hours photoperiod. After this period, the plant material was collected for analysis of concentrations of total soluble sugars and proline and enzymatic activity. The plants were kept in a greenhouse until physiological maturity, when their yield components were caused. It was the test of grouping means for the physiological and agronomic traits and principal component analysis were performed. In general, cold stress caused a drop in yield components of cultivars, increased proline synthesis and enzyme activity of catalase. The yield component most affected by cold was the number of pods per plant. A lower activity of the enzyme superoxide dismutase in the cold offers tolerance of the cultivars to this stress. BRSMG Madrepérola and IAC Imperador were the cultivars most sensitive to cold stress, the greatest reduction in yield components, while ANFc 9 and ANfp 110 were more tolerant, showing that they have adaptive mechanisms at low temperatures.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Yield of agricultural crops. Enzyme activity and regulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Sementes das cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas do experimento. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 25
- Figura 2 – Plantio escalonado de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com ciclos diferentes. As setas indicam plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, IAC Milênio em V1 (emergência) e BRSMG Madrepérola em V2 (folhas primárias expandidas), em mesma data. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 26
- Figura 3 – Estádios de desenvolvimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). A) Estádio R6 – florescimento. B) Estádio R9 – maturação, material pronto para colheita. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 27
- Figura 4 – Massa de grãos por planta de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em condição de não estresse e redução na massa de grãos por planta causada por frio moderado (intensidade de estresse 0,46) em estágio R6. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 35
- Figura 5 – Índice de suscetibilidade a baixas temperaturas (LTSI) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 37
- Figura 6 – Atividade enzimática da catalase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}) em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 41
- Figura 7 – Atividade enzimática da peroxidase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}) em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 42
- Figura 8 – Análise de componentes principais do conjunto de caracteres analisados de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 44
- Figura 9 – Análise de componentes principais dos componentes do rendimento de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..... 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) avaliadas quanto a suas respostas a baixas temperaturas. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	24
Tabela 2 – Resumo da análise de variância para componentes do rendimento de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	32
Tabela 3 – Média do número de legumes por planta (NLP) de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..	33
Tabela 4 - Média do número de grãos por legume (NGL) de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021..	34
Tabela 5 - Média da massa de grãos por planta (MGP) de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	35
Tabela 6 - Média do número de grãos falhos por legume (NGFL) de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	36
Tabela 7 – Resumo da análise de variância para índices de componentes do rendimento de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	36
Tabela 8 – Média do índice de tolerância a baixas temperaturas (LTTI), da produtividade média geométrica (GMP), da taxa de redução de rendimento (YRR) e do índice de estabilidade de rendimento (YSI) de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	38
Tabela 9 - Resumo da análise de variância para caracteres fisiológicos de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	38
Tabela 10 - Média da concentração de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de material fresco) em cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	39
Tabela 11 - Resumo da análise de variância para atividade enzimática de cultivares de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.....	40

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

Conab	Companhia Nacional de Abastecimento
Conafer	Confederação Nacional dos Agricultores Familiares
DERAL	Departamento de Economia Rural
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAEP	Federação da Agricultura do Estado do Paraná
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
IAPAR	Instituto Agrônômico do Paraná
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
Zarc	Zoneamento Agrícola de Risco Climático

LISTA DE ABREVIATURAS

AST	Açúcares solúveis totais
CAT	Catalase
CBF	<i>C-repeat binding factor</i>
COR	<i>Cold regulated</i>
CV	Coefficiente de variação
ERD7	<i>Early response to dehydration 7</i>
GFI	Índice de enchimento de grãos
GL	Graus de liberdade
GMP	Produtividade média geométrica
h	Hora
ha	Hectare
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
LTII	Índice de intensidade de baixas temperaturas
LTSI	Índice de suscetibilidade a baixas temperaturas
LTTI	Índice de tolerância a baixas temperaturas
Mb	Mega bases
MCG	Massa de 100 grãos
MGP	Massa de grãos por planta
min	Minuto
mm	Milímetro
MP	Produtividade média
NBT	Azul de nitrotetrazólio
NGF	Número de grãos falhos por planta
NGFL	Número de grãos falhos por legume
NGL	Número de grãos por legume
NGP	Número de grãos por planta
NLP	Número de legumes por planta
POD	Peroxidase
QM	Quadrado médio
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SBCS	Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
SOD	Superóxido dismutase
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
X _{LTS}	Média da massa de grãos por planta em todas as cultivares na condição frio
X _{NS}	Média da massa de grãos por planta em todas as cultivares na condição controle
Y _{LTS}	Média da massa de grãos por planta em cada cultivares na condição frio
Y _{NS}	Média da massa de grãos por planta em cada cultivares na condição controle
YRR	Taxa de redução de rendimento
YSI	Índice de estabilidade de rendimento

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
g	Gramma
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
M	Molar
mg g ⁻¹	Miligramma por grama
mL	Mililitro
mM	Milimolar
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
U mg ⁻¹ prot min ⁻¹	Atividade enzimática por miligramma de proteína por minuto
µg g ⁻¹	Microgramma por grama
µL	Microlitro
µM	Micromolar
µM mg ⁻¹ prot min ⁻¹	Micromolar por miligramma de proteína por minuto
µmol m ⁻² s ⁻¹	Micromol por metro quadrado por segundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 A CULTURA DO FEIJÃO.....	17
2.1.1 Botânica e domesticação.....	17
2.1.2 Importância do feijão.....	18
2.1.3 Produção de feijão.....	19
2.2 MECANISMOS DE TOLERÂNCIA A BAIXAS TEMPERATURAS EM PLANTAS	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	25
3.2 ANÁLISES AGRONÔMICAS.....	28
3.3 ANÁLISES FISIOLÓGICAS.....	29
3.3.1 Concentração de açúcares solúveis totais.....	29
3.3.2 Concentração de prolina.....	30
3.3.3 Atividade enzimática.....	30
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 ANÁLISES AGRONÔMICAS.....	33
4.2 ANÁLISES FISIOLÓGICAS.....	39
4.2.1 Concentração de açúcares solúveis totais e prolina.....	39
4.2.2 Atividade enzimática.....	40
4.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	44
5 CONCLUSÕES.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
APÊNDICE A.....	56
APÊNDICE B.....	57

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é o grão de maior importância para o consumo humano direto (BROUGHTON et al., 2003), além de ter papel social e econômico (CONAFER, 2020). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial do grão (FAO, 2019), tendo produzido na safra 2019/20, 3,222 milhões de toneladas, em uma área de 2,926 milhões de hectares. O Paraná é o estado com maior produção de feijão, seguido por Minas Gerais (CONAB, 2020).

No Brasil, a produção de feijão acontece durante o ano todo (EMBRAPA, 2014). Em cada município, as datas indicadas para semeadura são limitadas pelo zoneamento agrícola de risco climático, que busca minimizar os riscos relacionados a fenômenos climáticos adversos (MAPA, 2020a), sendo as principais limitações relacionadas a temperatura e a disponibilidade hídrica (MAPA, 2020b).

A exigência hídrica durante o ciclo do feijão varia de 300 a 600 mm de água, dependendo das condições climáticas onde é cultivado (CARVALHO et al., 2014), e a faixa de 20 a 25 °C, é considerada ótima para seu desenvolvimento (DE RON et al., 2016). Altas temperaturas causam queda de rendimento, pois provocam abortamento de botões florais e vagens (SUÁREZ et al., 2020). Enquanto que baixas temperaturas podem inibir a germinação de sementes e retardar o crescimento das plantas (DE RON et al., 2016), além de causar redução de rendimento (NÓIA JÚNIOR et al., 2018). Perdas de produtividade na cultura do feijão já foram registradas em municípios do Paraná, pela ocorrência de baixas temperaturas no final do ciclo de feijão segunda safra (FAEP, 2017; DERAL, 2017).

O estresse por baixas temperaturas pode acontecer por resfriamento (0 a 15 °C) ou por congelamento (<0 °C) (GUO et al., 2018). No enfrentamento de condições adversas, como o frio, as plantas desenvolvem mecanismos de defesa que permite sua adaptação, desencadeando um processo chamado de aclimatação (DING et al., 2019).

Um dos mecanismos de defesa das plantas em resposta ao frio é a produção de substâncias protetoras, como açúcares solúveis, prolina e outros solutos de baixo peso molecular (DING et al., 2019), que mantém a integridade das membranas e organelas das células durante o período de ocorrência do estresse

(LIU et al., 2018). Além de um aumento de ácidos graxos insaturados nas membranas, mantendo sua fluidez e função, já que um alto nível de saturação torna as membranas mais rígidas sob baixas temperaturas, podendo até, perder a integridade (JOHNSON, 2018; SHI et al., 2018a). Outro mecanismo, é a produção de espécies reativas de oxigênio, que induzem o estresse oxidativo nas plantas (TURHAN et al., 2012). Elas podem ser eliminadas pelo sistema antioxidante enzimático, com ação de enzimas como superóxido dismutase, catalase e peroxidases (JOUDMAND; HAJIBOLAND, 2019).

Em resposta ao frio, as plantas também ativam a sinalização molecular. Entre os genes ativados em resposta a esse estresse estão os *c-repeat binding factor* (CBF) e *cold regulated* (COR). Alguns desses codificam fatores de transcrição que ativam genes ligados a síntese de proteínas e macromoléculas biológicas como enzimas envolvidas na respiração e metabolismo de carboidratos, lipídeos e antioxidantes, além de proteínas anticongelamento e outros (WANG et al., 2017).

Diante disso, é importante que se conheça quais os mecanismos de defesa que o feijão ativa quando exposto a baixas temperaturas e quais são as cultivares que melhor se adaptam a essa condição. Essas informações são úteis a melhoristas da espécie que buscam novas cultivares que tolerem melhor o resfriamento. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas e agrônômicas de cultivares de feijão ao frio em estágio reprodutivo R6, determinando quais as cultivares mais tolerantes e mais sensíveis ao resfriamento por meio da análise dos componentes do rendimento, a síntese de açúcares solúveis totais, prolina e atividade enzimática, e assim, prover informações aos programas de melhoramento genético da espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO FEIJÃO

2.1.1 Botânica e domesticação

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence a família Fabaceae (TROPICOS, 2020), apresenta hábito de crescimento herbáceo, com caule formado por nós e entrenós. No primeiro nó estão inseridos os cotilédones, no segundo, as folhas primárias e, a partir do terceiro, as folhas trifolioladas, ou definitivas. Suas flores, dispostas em inflorescências racemosas, são formadas por cinco pétalas, o estandarte, mais externa e maior, duas asas, que são menores e estreitas, e duas quilhas, que são fusionadas e envolvem os órgãos reprodutivos. Seu fruto é um legume deiscente, e suas sementes podem apresentar uma grande diversidade de cores, como preto, branco, bege, vermelho, marrom, amarelo, entre outras, dependendo do genótipo (DA SILVA e COSTA, 2003).

As plantas podem apresentar hábito de crescimento determinado ou indeterminado. Crescimento determinado é característico de plantas com porte ereto (tipo I), enquanto que o crescimento indeterminado está presente em plantas de porte semiereto, prostrado e trepador, tipos II, III e IV, respectivamente. Os estádios de desenvolvimento do feijão são divididos em vegetativo e reprodutivo, e são nomeados: V0, quando a semente inicia o processo de germinação; V1, na emergência, quando 50% dos cotilédones estão visíveis; V2, quando as folhas primárias estão totalmente expandidas; V3, ao surgir a primeira folha composta, com folíolos completamente abertos; V4, quando a planta apresenta o terceiro trifólio aberto; R5, no surgimento dos primeiros botões florais; R6, quando a planta apresenta 50% das flores abertas; R7, com a formação das primeiras vagens (canivetes); R8, onde ocorre o enchimento dos grãos e conseqüente aumento no volume das vagens e, R9, que representa a maturação, onde as vagens perdem a cor e começam a secar (OLIVEIRA et al., 2018).

A domesticação do feijoeiro ocorreu há cerca de 8000 anos, em dois eventos independentes, cada um originário de um *pool* genético geográfica e

geneticamente isolado do outro, um na Mesoamérica e outro no centro-sul dos Andes (RENDÓN-ANAYA et al., 2017). As sementes de feijão domesticadas na Mesoamérica apresentam faseolina do tipo “S” e são de tamanho menor que as domesticadas na região andina, que apresentam faseolina do tipo “T” (GEPTS et al., 1986).

O feijoeiro é uma espécie diploide ($2n=2x=22$), com genoma de aproximadamente 587 Mb (SCHMUTZ et al., 2014). Apesar de ser uma espécie predominantemente autógama, o fluxo gênico dentro e entre populações selvagens e domesticadas, permitiu a introgressão de genes, e com isso, as plantas passaram a se adaptar em ambientes fora dos centros de origem (RENDÓN-ANAYA et al., 2017).

2.1.2 Importância do feijão

As leguminosas secas, como o feijão, são conhecidas como “a carne dos pobres”, por serem ricas nutricionalmente e de baixo custo (ICARDA, 2016), sendo tal espécie considerada o grão de maior importância para o consumo humano direto (BROUGHTON et al., 2003). A composição mineral de sementes de feijão pode variar com o genótipo, mas de maneira geral, apresentam altos níveis de ferro, zinco, fósforo e cálcio, que chegam a $99 \mu\text{g g}^{-1}$, $39 \mu\text{g g}^{-1}$, 5mg g^{-1} e 2mg g^{-1} , respectivamente, além de alto teor de proteína, que varia de 20 a 27% (KATUURAMU et al., 2018). A concentração destes cinco componentes apresenta forte correlação positiva entre si (PINHEIRO et al., 2010).

Além disso, o feijão também apresenta componentes funcionais, como carboidratos, vitaminas, fibras solúveis e polifenóis. Entre os polifenóis, os ácidos fenólicos, flavonoides e proantocianidinas, têm importante papel antioxidante. Estes compostos são mais comuns em feijões coloridos, principalmente em seus tegumentos pigmentados (YANG et al., 2018), e são também mais abundantes em cultivares de vagem verde, do que nas de vagem amarela (WEIDNER et al., 2018).

O feijão não só tem grande importância nutricional, como também social e econômica. Cerca de 70% do feijão brasileiro é produzido pela agricultura familiar, gerando emprego e renda (CONAFER, 2020).

2.1.3 Produção de feijão

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão, atrás apenas de Myanmar e Índia, mas é o segundo em produção de feijão na série histórica, desde 1961 (FAO, 2019). A produção nacional na safra 2019/20 foi de 3,222 milhões de toneladas, em uma área de 2,926 milhões de hectares (ha), sendo o Paraná o estado com maior produção de feijão, seguido por Minas Gerais (CONAB, 2020).

A produção de feijão no Brasil ocorre durante o ano todo, e é dividida em três épocas. A “safra das águas” ocorre de agosto a dezembro, a “época da seca” vai de janeiro a abril, enquanto que a “safra de inverno” acontece de maio a agosto (EMBRAPA, 2014). A nomenclatura de cada época é baseada na condição climática esperada na colheita da cultura (FANCELLI; NETO, 2007). As datas de semeadura de cada cultura, para cada município brasileiro, são limitadas pelo zoneamento agrícola de risco climático (ZARC), que tem como objetivo a minimização dos riscos relacionados a fenômenos climáticos adversos (MAPA, 2020a).

A semeadura de feijão na “época de inverno” não é recomendada para nenhum estado da região Sul (MAPA, 2020b). Para cada município brasileiro, em cada época de plantio, existem restrições de datas de semeadura (MAPA, 2020b). As limitações são baseadas nos dois fatores climáticos que mais afetam a cultura: temperatura e disponibilidade hídrica (MAPA, 2020b). Porém, o ZARC também leva em consideração o ciclo das cultivares registradas e o tipo de solo onde a semeadura será realizada, e indica qual o risco em cada caso (MAPA, 2020b).

A deficiência hídrica é um dos fatores que mais afeta a produtividade do feijão, principalmente se acontecer durante a germinação, florescimento ou no enchimento de grãos (BASTOS et al., 2016). Entretanto, o excesso de água durante o ciclo da cultura também reduz sua produtividade (DA CONCEIÇÃO et al., 2018). A exigência hídrica do feijão encontra-se entre 300 e 600 mm de água, dependendo das condições climáticas onde é cultivado (CARVALHO et al., 2014).

Outro fator que afeta negativamente o desenvolvimento e a produtividade do feijão são temperaturas fora da faixa ideal, que varia de 20 a 25 °C

(DE RON et al., 2016). Temperaturas acima de 30 °C durante o dia e maiores que 20 °C durante a noite, causam queda de rendimento (SUÁREZ et al., 2020). Se esse estresse ocorrer na fase reprodutiva da cultura, a viabilidade do pólen é reduzida e ocorre abortamento de botões florais e vagens (SUÁREZ et al., 2020).

Por outro lado, temperaturas abaixo de 15 °C podem inibir a germinação de sementes e retardar o crescimento das plantas (DE RON et al., 2016), além de acarretar fechamento estomático e consequente queda na taxa de assimilação de CO₂ e redução na fotossíntese (NÓIA JÚNIOR et al., 2018). Em leguminosas, temperaturas fora da faixa ideal prejudicam o crescimento e retenção das flores, seguido de aborto do óvulo, redução de frutos e enchimento de grãos prejudicado (BHANDARI et al., 2017).

A ocorrência de frio enquanto lavouras de feijão estão instaladas causam perdas de produtividade e prejuízo aos agricultores. No estado do Paraná, isso ocorre com maior frequência, pois grande parte do feijão é produzido na chamada safrinha, ou época da seca, quando pode ser atingido por baixas temperaturas durante a fase reprodutiva de seu ciclo (FOLHA AGRÍCOLA, 2017). Esse cenário foi vivido por produtores paranaenses no ano de 2017, que tiveram lavouras atingidas por geadas no final do ciclo de feijão segunda safra (“época da seca”), reduzindo sua produtividade (FAEP, 2017). No município de Renascença, Sudoeste do estado, 1.700 ha foram perdidos devido à ocorrência desse fenômeno climático (DERAL, 2017). Dessa maneira, tornam-se importantes estudos sobre as respostas do feijão ao frio, para entender seus mecanismos de defesa e conhecer materiais com potencial para serem usados em programas de melhoramento genético da espécie, buscando genótipos que sofram menos impacto quando atingidos por baixas temperaturas.

2.2 MECANISMOS DE TOLERÂNCIA A BAIXAS TEMPERATURAS EM PLANTAS

As mudanças climáticas que vêm ocorrendo no mundo alteram os padrões de chuva e temperaturas e redistribuem geograficamente pragas e doenças (FAO, 2020). Tais mudanças afetam direta e indiretamente a produtividade agrícola (FAO, 2020). Para se adaptar a condições climáticas adversas, como baixas

temperaturas, as plantas podem desenvolver mecanismos de defesa, desencadeando um processo chamado de aclimação (DING et al., 2019). Esse processo ocorre quando as plantas são expostas a um estresse menos intenso, possibilitando a ativação de defesas a um possível estresse mais drástico (DING et al., 2019).

O estresse por baixas temperaturas pode ocorrer por resfriamento, onde as plantas enfrentam temperaturas entre 0 e 15 °C, ou por congelamento, quando são expostas a temperaturas inferiores a 0 °C (GUO et al., 2018). Em regiões tropicais e subtropicais o estresse por resfriamento causa queda de produtividade das culturas, enquanto que em regiões de clima temperado, esse estresse pode induzir a aclimação, aumentando a tolerância das plantas ao congelamento (GUO et al., 2018).

Uma das alterações que acontece na aclimação de plantas a baixas temperaturas é a produção de substâncias que funcionam como osmólitos protetores dos danos causados pelo frio, como prolina (DING et al., 2019), açúcares solúveis, como maltose (ZHAO et al., 2019) e sacarose (LIN et al., 2019), e outros solutos de baixo peso molecular (DING et al., 2019), que mantêm a integridade das membranas e organelas das células durante o estresse (LIU et al., 2018). Em plantas de cana-de-açúcar selvagem (*Saccharum spontaneum*) (YANG et al., 2020) e plantas transgênicas de pera (*Pyrus betulaefolia*) (ZHAO et al., 2019) o acúmulo de açúcares solúveis aumentou a tolerância das plantas ao frio. O mesmo mecanismo foi encontrado em tubérculos de batata armazenados em baixas temperaturas (LIN et al., 2019). O acúmulo de prolina em resposta ao frio ocorre de forma diferente entre espécies. Em *Arabidopsis* há aumento significativo do aminoácido após quatro horas de exposição a temperaturas de 4 a 8 °C, enquanto que em trigo, o aumento ocorreu após uma semana de aclimação ao frio (RUELLAND et al., 2009).

Outra resposta adaptativa das plantas ao frio é a mudança na composição de ácidos graxos das membranas celulares. Baixas temperaturas tornam as membranas mais rígidas, o que pode acarretar, junto com a desidratação causada pela formação de gelo extracelular, a perda de integridade da membrana. Durante a aclimação, pela ação de enzimas dessaturases, há um aumento de

ácidos graxos insaturados, mantendo a fluidez e a função da membrana mesmo sob baixas temperaturas (JOHNSON, 2018; SHI et al., 2018a). Em plantas de tabaco submetidas ao resfriamento houve um aumento significativo de ácido α -linolênico (18:3n-3) nas membranas do cloroplasto, ajustando a fluidez da membrana ao nível suficiente para o funcionamento do aparato fotossintético (POPOV et al., 2017). Plantas mutantes de *Arabidopsis*, sem o gene ERD7 (*early response to dehydration 7*), não alteraram a composição dos ácidos graxos de membranas quando expostas ao frio e, tornaram-se suscetíveis ao estresse por resfriamento (BARAJAS-LOPEZ et al., 2020).

Além destes efeitos, o estresse por baixas temperaturas acarreta a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS – *reactive oxygen species*), como superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^{\cdot}) e oxigênio singleto (O_2^1), que induzem o estresse oxidativo nas plantas (TURHAN et al., 2012). Um dos mecanismos que amenizam os danos oxidativos é o sistema antioxidante enzimático. Nesse sistema, os radicais superóxidos são eliminados pela enzima superóxido dismutase (SOD), resultando na formação de H_2O_2 que é então reduzido pela catalase (CAT) e peroxidases (PODs) a H_2O (água) (JOUDMAND e HAJIBOLAND, 2019).

Embora trabalhos de revisão da literatura relatem que há diminuição de atividade de enzimas que eliminam ROS no frio (DING et al., 2019; RUELLAND et al., 2009), plantas de morango aclimatadas a baixas temperaturas tiveram um aumento na atividade da CAT (TURHAN et al., 2012), enquanto que em *Arabidopsis*, a atividade dessa enzima não variou durante a aclimação ao frio, mas apresentou aumento progressivo da POD e atividade flutuante da SOD, com queda da atividade ao final do período de aclimação (SIN'KEVICH et al., 2016). Em cevada, houve aumento significativo nas atividades de POD e CAT, mas não de SOD, quando aclimatadas a baixas temperaturas (JOUDMAND e HAJIBOLAND, 2019).

A sinalização celular é outro evento importante de resposta ao estresse por baixas temperaturas. Esta, é consequência do aumento da concentração de cálcio no citoplasma celular, que desencadeia uma cascata de sinalização que resulta na expressão de genes de resposta ao frio (RIHAN et al., 2017). A via de sinalização melhor caracterizada é a CBF-COR. Os genes *c-repeat binding*

factor/dehydration-responsive element-binding protein1 (CBF/DREB1) são induzidos rapidamente sob estresse por frio, e têm um importante papel na aclimação das plantas. COR é uma classe de genes regulados pelo frio, como *cold regulated* (COR), *low temperature induced* (LTI) e *cold inducible* (KIN) (DING et al., 2019).

Existe uma conexão genética entre o número e nível de expressão de genes CBF e tolerância ao frio (WANG et al., 2017). Algumas das proteínas codificadas por CBF são fatores de transcrição que se ligam a promotores de genes COR, induzindo sua expressão (DING et al., 2019; SHI et al., 2018b; ZHUO et al., 2018). Os genes COR estão relacionados com proteínas e macromoléculas biológicas como enzimas envolvidas na respiração e metabolismo de carboidratos, lipídeos e antioxidantes, além de proteínas anticongelamento e outros (WANG et al., 2017).

Entretanto, a expressão de genes de tolerância ao frio afeta o crescimento da planta, mesmo sob condições normais (SHI et al., 2018b). Mutantes triplo *cbfs* de *Arabidopsis thaliana* apresentaram raízes menores, rosetas com menos e menores folhas e menor biomassa que as plantas selvagens (SHI et al., 2018b). Porém, quando submetidas a um resfriamento de 4 °C, as plantas mutantes ficaram maiores que as selvagens (SHI et al., 2018b). Isso mostra o importante balanço feito pelos genes CBFs entre limitação de crescimento e tolerância a baixas temperaturas (SHI et al., 2018b).

Em feijoeiro, o estresse por frio (4 °C) aplicado por dois ou quatro dias aos 30 dias após a semeadura reduziu a massa seca e fresca de raízes e o teor de clorofila b, com diferença significativa para zero, dois e quatro dias de estresse (SOLIMAN et al., 2018). Também, houve aumento na expressão relativa dos genes CBF3 e COR47 no estresse em relação ao controle, mas sem diferença significativa entre os tempos de resfriamento (SOLIMAN et al., 2018). A aplicação de ácido acetilsalicílico exógeno aumenta a tolerância do feijoeiro ao frio em estádios iniciais de desenvolvimento (SOLIMAN et al., 2018).

O efeito do frio no rendimento do feijão ainda é pouco investigado e os estudos existentes são antigos. Os trabalhos mostram que o frio alonga o ciclo da cultura e reduz sua produtividade (FERRÃO et al., 2006; HARDWICK e ANDREWS, 1980; VIEIRA et al., 2000). A queda de rendimento tem como causas principais a

redução de legumes por planta (FERRÃO et al., 2006) e menor número de grãos por planta (HARDWICK e ANDREWS, 1980).

A sensibilidade do feijão ao frio é uma característica importante para o melhoramento genético da cultura (ASSEFA et al., 2019). O cruzamento interespecífico entre *P. vulgaris* e *P. acutifolius* busca a introgressão de genes promissores de tolerância a temperaturas extremas em *P. vulgaris* (SOUTER et al., 2017). Mas cruzamentos entre espécies se mostram inferiores aos realizados entre materiais da mesma espécie, por fatores como a baixa eficácia de introgressão e instabilidade citológica e genética do material de introgressão (MOTSNYI et al., 2019). Por isso, é necessária a identificação de genótipos de feijão com maior tolerância ao frio. Isso fornece aos melhoristas informações úteis de possíveis pais a serem usados no melhoramento genético da cultura, a fim de se obter uma cultivar tolerante ao resfriamento, evitando perdas de produção por tal condição.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O experimento foi realizado em casa de vegetação, com circulação forçada de ar, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Pato Branco (26°10'35" S, 52°41'23" W). Foram utilizadas sete cultivares comerciais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Tabela 1, Figura 1), sendo quatro do grupo carioca e três do grupo preto, todas derivadas de materiais de origem mesoamericanos e de ampla utilização por agricultores. As sementes utilizadas foram obtidas no banco de sementes do Laboratório de Biologia Molecular da UTFPR, Câmpus Pato Branco.

Tabela 1 – Cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliadas quanto a suas respostas a baixas temperaturas. UTFPR, Pato Branco, 2021.

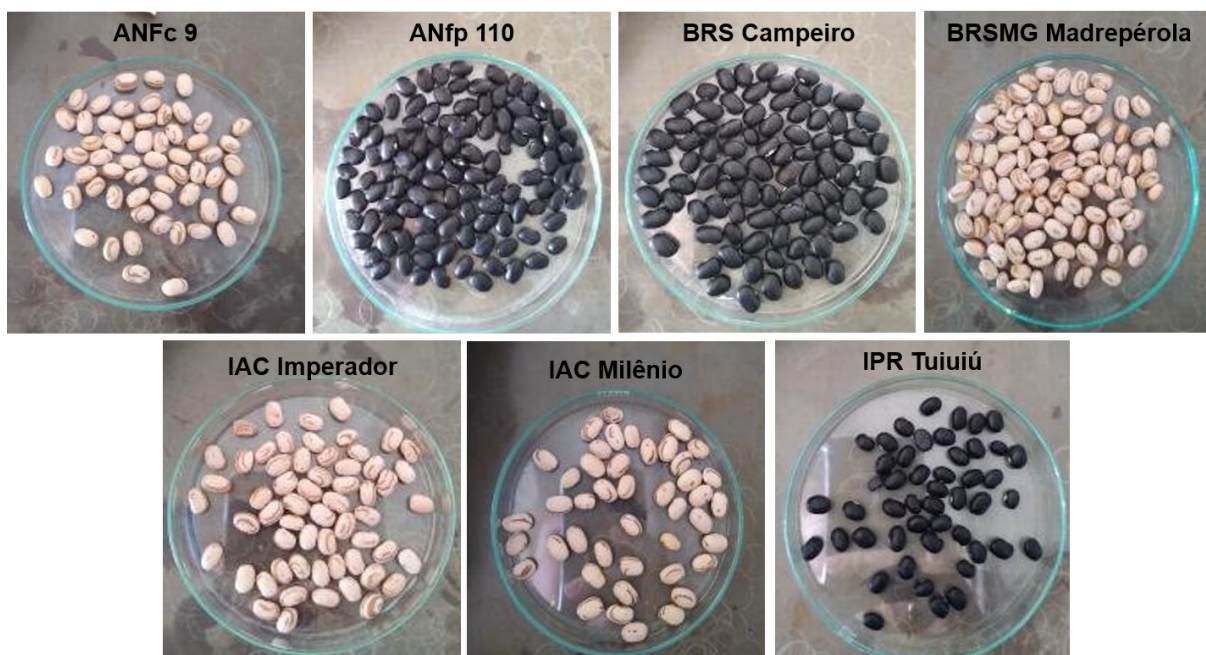
Cultivar	Ciclo médio (dias)	Hábito de crescimento	Grupo Comercial	Obtentor	Fonte
ANFc 9	88-94	Indeterminado	Carioca	Agro Norte Pesquisa e Sementes	Agro Norte, 2021
ANfp 110	85	Determinado	Preto	Agro Norte Pesquisa e Sementes	Agro Norte, 2021
BRS Campeiro	85	Determinado	Preto	Embrapa	Embrapa, 2003
BRSMG Madrepérola	83-88	Indeterminado	Carioca	Embrapa, Epamig, UFLA e UFV	Embrapa, 2011
IAC Imperador	75	Determinado	Carioca	Instituto Agrônômico (SP)	IAC, 2021
IAC Milênio	95	Indeterminado	Carioca	Instituto Agrônômico (SP)	IAC, 2021
IPR Tuiuiú	88	Indeterminado	Preto	IAPAR	IAPAR, 2021

Fonte: GOBATTO, D. R., 2021

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com três repetições em esquema bifatorial, sendo os níveis do fator A as condições frio e controle e os níveis do fator B as sete cultivares. Cada unidade experimental foi composta por seis vasos. A semeadura ocorreu em janeiro de 2020 em vasos de

oito litros, e foi escalonada (Figura 2) de acordo com os dias da semeadura ao florescimento, determinados pelos obtentores de cada cultivar, para que todas atingissem o florescimento em mesma data. As sementes utilizadas no experimento foram tratadas com Standak® Top (Fipronil – inseticida + Piraclostrobia e Tiofanato-metílico – fungicidas). O substrato utilizado foi uma mistura solo argiloso:areia (3:1) solarizado, para eliminação de patógenos. A adubação seguiu as recomendações do manual de adubação e calagem para o estado do Paraná (SBCS, 2017), de acordo com análise de solo. A irrigação foi feita por gotejamento mantendo a capacidade de campo em 80%.

Figura 1 – Sementes das cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas do experimento. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

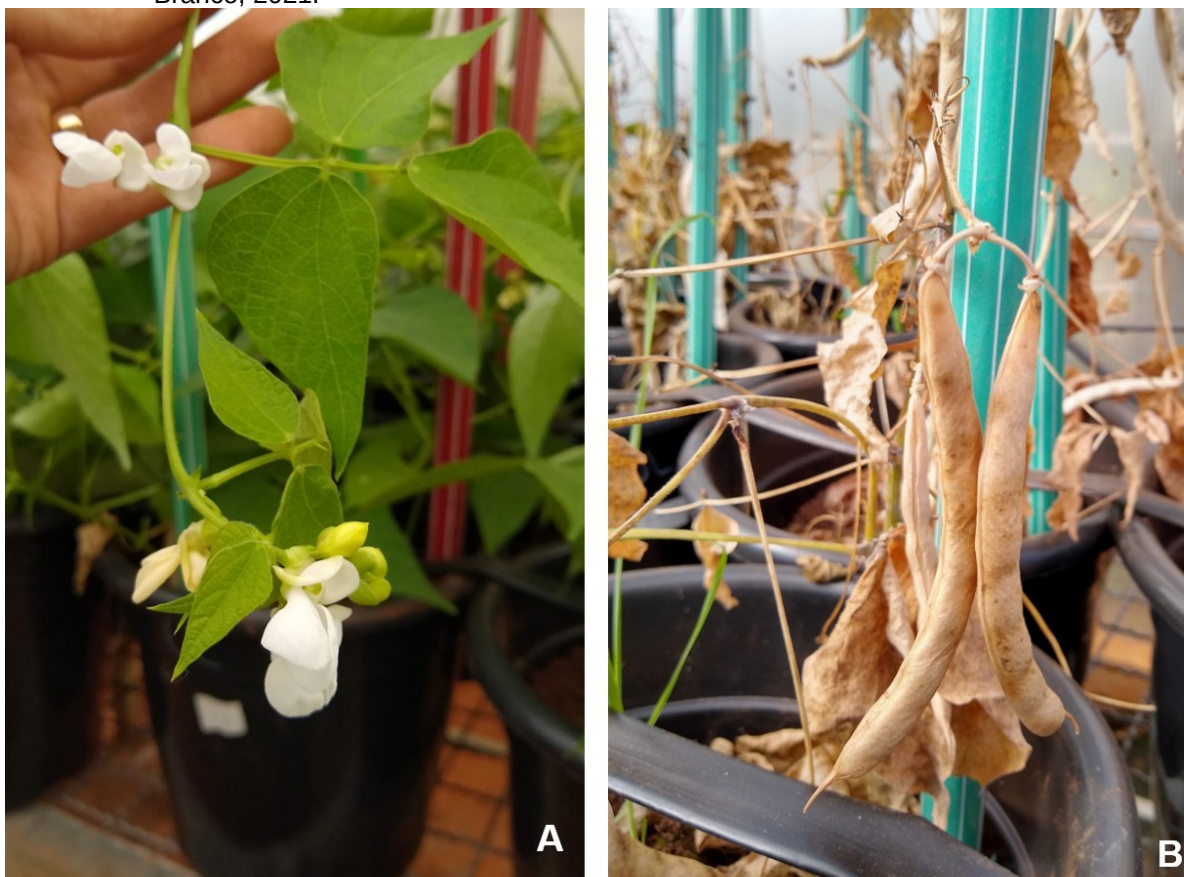
Figura 2 – Plantio escalonado de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com ciclos diferentes. As setas indicam plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, IAC Milênio em V1 (emergência) e BRSMG Madrepérola em V2 (folhas primárias expandidas), em mesma data. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

As plantas cresceram em casa de vegetação sob temperatura de 15 a 35 °C, até o estágio reprodutivo R6 (Figura 3A). Nessa fase, metade dos vasos foram transferidos para câmara climática para crescimento de plantas, onde foram submetidas a temperatura de 5 a 9 °C durante três dias (TIRYAKI et al., 2019), com intensidade luminosa de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (HOSHIKA et al., 2016) e fotoperíodo de 12 horas, como enfrentado pelas plantas da casa de vegetação, caracterizando a condição “frio”. As plantas que não enfrentaram temperaturas baixas, formaram a condição “controle”. Ao final desse período foi coletado, em nitrogênio líquido, material vegetal (folhas) de todos os tratamentos para análises fisiológicas, que permaneceram armazenados a -40 °C até a realização das análises. As plantas da câmara de crescimento voltaram para casa de vegetação, onde, junto com as da condição controle, permaneceram até o final do ciclo (Figura 3B) para avaliação dos componentes do rendimento.

Figura 3 – Estádios de desenvolvimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). A) Estádio R6 – florescimento. B) Estádio R9 – maturação, material pronto para colheita. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

3.2 ANÁLISES AGRONÔMICAS

Ao atingirem a maturidade fisiológica, foi realizada análise dos componentes do rendimento das cultivares. De cinco plantas representativas por unidade experimental, foram avaliados: número de legumes por planta (NLP), número de grãos por planta (NGP), número de grãos por legume (NGL), número de grãos falhos por planta (NGF), número de grãos falhos por legume (NGFL), massa de grãos por planta (MGP) e massa de cem grãos (MCG).

Além disso, alguns índices foram calculados a partir dos dados primários. São eles: índice de enchimento de grão (GFI – *grain filling index*), índice de intensidade de baixas temperaturas (LTII – *low temperature intensity index*) (adaptado de BEEBE et al., 2013), índice de suscetibilidade a baixas temperaturas

(LTSI – *low temperature suscetibility index*), índice de tolerância a baixas temperaturas (LTTI – *low temperature tolerance index*), produtividade média (MP – *mean productivity*), produtividade média geométrica (GMP – *geometric mean productivity*), taxa de redução de rendimento (YRR – *yield reduction rate*) e índice de estabilidade de rendimento (YSI – *yield stability index*) (adaptado de DARKWA et al., 2016). Os índices foram calculados usando as seguintes fórmulas:

$$\text{GFI} = [(\text{massa de 100 grãos no frio/massa de 100 grãos no controle}) \times 100] \quad (1)$$

$$\text{LTII} = [1 - (X_{\text{LTS}}/X_{\text{NS}})] \quad (2)$$

$$\text{LTSI} = \{[1 - (Y_{\text{LTS}}/Y_{\text{NS}})]/\text{LTII}\} \quad (3)$$

$$\text{LTTI} = [(Y_{\text{LTS}} \times Y_{\text{NS}})/(X_{\text{LTS}})^2] \quad (4)$$

$$\text{MP} = [(Y_{\text{LTS}} + Y_{\text{NS}})/2] \quad (5)$$

$$\text{GMP} = [(Y_{\text{LTS}} \times Y_{\text{NS}})^{0,5}] \quad (6)$$

$$\text{YRR (\%)} = [(Y_{\text{NS}} - Y_{\text{LTS}})/Y_{\text{NS}}] \times 100 \quad (7)$$

$$\text{YSI} = (Y_{\text{LTS}}/Y_{\text{NS}}) \quad (8)$$

onde, X_{LTS} e X_{NS} são as médias de MGP de todas as cultivares na condição frio e controle, respectivamente, e Y_{LTS} e Y_{NS} são as médias de MGP por cultivar sob estresse por resfriamento e a condição controle, respectivamente.

3.3 ANÁLISES FISIOLÓGICAS

3.3.1 Concentração de açúcares solúveis totais

A análise do teor de açúcares solúveis totais (AST), seguiu a metodologia proposta por Dubois et al. (1956), onde 1 g de material vegetal foi macerado com 10 mL de tampão fosfato 0,2 M, pH 7,5. Após a maceração, em triplicata, as amostras foram centrifugadas a 15000 g por 15 minutos a 4 °C, e 10 µL do sobrenadante foram recuperados e adicionados de 0,49 mL de água destilada, 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico. Por fim, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tóquio, Japão), em

comprimento de onda de 490 nm. Os valores obtidos para absorvância foram substituídos em curva de calibração previamente realizada, para obtenção do teor de açúcares solúveis totais das amostras.

3.3.2 Concentração de prolina

Para a determinação de prolina livre, 0,5 g de material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido, posteriormente foram adicionados 10 mL de ácido sulfossalicílico 3% e filtrado. Do filtrado foram recuperados 2 mL que foram adicionados de 2 mL de ácido acético glacial e 2 mL de ninhidrina ácida. As amostras foram para banho-maria a 100 °C por uma hora e posterior banho de gelo. Às amostras foram adicionados 4 mL de tolueno e misturados vigorosamente. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tóquio, Japão) a 520 nm. Os valores obtidas para absorvância foram substituídos em curva de calibração previamente realizada, para obtenção do teor de prolina das amostras (BATES et al. 1973).

3.3.3 Atividade enzimática

O extrato enzimático foi obtido conforme metodologia de Bettini et al. (2014) com modificações. Aproximadamente 0,5 g de tecido vegetal foi macerado em nitrogênio líquido, adicionados 4% de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e tampão de extração [fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5, acrescido de 1 mM de ácido etilenodiamino tetracético dissódico diidratado (EDTA) e 3 mM de 1,4-ditiotreitol (DTT)], na proporção de 5 mL por 1 g de tecido vegetal. O macerado foi centrifugado por 30 minutos a 12000 g em centrífuga refrigerada a 4 °C. O sobrenadante foi armazenado a -20 °C e utilizado como extrato enzimático. O teor de proteínas foi determinado pela metodologia proposta por Bradford (1976).

A atividade da POD foi determinada com meio de reação composto por tampão fosfato de potássio 25 mM pH 6,8, 2,25 mM de guaiacol e 10 mM peróxido de hidrogênio. A 3 mL de meio de reação foi realizada a adição de 25 uL de extrato

enzimático. A formação de tetraguaiacol foi monitorada a 470 nm por 60 segundos em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tóquio, Japão). Para cálculo da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar do tetraguaiacol ($26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade da enzima expressa em $\mu\text{M mg}^{-1} \text{ de prot min}^{-1}$ (FLURKEY e JEN 1978).

Para determinação da atividade da CAT foi utilizada a metodologia de Havir e McHale (1987) com modificações. A 3 mL de meio de reação foram adicionados 25 μL de extrato enzimático. O meio de reação foi composto por tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,5 e 16 mM de peróxido de hidrogênio mantidos a 25 °C. Imediatamente após a adição do extrato enzimático, foi monitorado o consumo de peróxido de hidrogênio a 240 nm por 60 segundos em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tóquio, Japão). A atividade enzimática foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio ($34,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e a atividade expressa em função do teor de proteína ($\mu\text{M mg}^{-1} \text{ de prot min}^{-1}$).

A atividade da SOD foi avaliada conforme metodologia apresentada por Giannopolitis e Ries (1977) com modificações. A avaliação foi realizada pela capacidade da enzima inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). O meio reação foi composto por tampão fosfato 52,5 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM, NBT 0,075 mM, metionina 13 mM e riboflavina 2 μM . Para quantificação da atividade enzimática, foi realizada a adição de 25 μL do extrato enzimático a 3 mL do meio de reação. As amostras foram incubadas sob lâmpada fluorescente de 15 Watts por 10 minutos. Para o branco foi realizada a reação substituindo o extrato enzimático pelo tampão de extração. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tóquio, Japão) a 560 nm. Foi considerada uma unidade de SOD a quantidade de enzima capaz de inibir 50% da fotorredução do NBT nas condições de estudo. A atividade da enzima SOD foi expressa em função da quantidade de proteína ($\text{U mg}^{-1} \text{ prot min}^{-1}$).

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de

agrupamento de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Foi realizada análise de correlação de Pearson entre todas as variáveis respostas em ambas as condições. O programa estatístico utilizado foi Genes (CRUZ, 2013).

A análise de componentes principais foi realizada utilizando a linguagem R, na interface Rstudio versão 1.4.1103 (RStudio Team, 2021). Os pacotes utilizados foram factextra (KASSAMBARA e MUNDT, 2017) e FactoMineR (LÉ et al., 2008). O script gerado para as duas análises de componentes principais foi o mesmo (APÊNDICE A), mudando apenas o conjunto de dados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES AGRONÔMICAS

A análise de variância para os componentes do rendimento mostra que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as condições térmicas (controle e frio) para todos os componentes, exceto MCG, que não foi significativo. Entre as cultivares houve diferença significativa apenas para NLP ($p < 0,01$). A interação condição X cultivar foi significativa ($p < 0,01$) apenas para NLP, NGL e MGP (Tabela 2).

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para componentes do rendimento de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Fonte de variação	GL	QM				
		NLP	NGL	NGFL	MGP	MCG
Condição	1	107,52**	12,36**	8,08**	138,90**	15,16ns
Cultivar	6	8,87**	0,73ns	0,83ns	7,02ns	38,96ns
Condição X Cultivar	6	10,24**	2,44**	0,43ns	16,13**	24,32ns
Erro	26	1,81	0,48	0,55	2,92	18,41
CV (%)		17,36	21,23	27,69	28,32	20,41

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade de erro e não significativo, respectivamente. GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; NLP: número de legumes por planta; NGL: número de grãos por legume; NGFL: número de grãos falhos por legume; MGP: massa de grãos por planta (g); MCG: massa de cem grãos (g); CV (%): coeficiente de variação. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

A intensidade do frio a que as cultivares foram expostas, representada por LTII de 0,46, é considerada moderada (DARKWA et al., 2016; DIPP et al., 2017). Esse estresse afetou significativamente a maioria dos componentes de rendimento. Somente MCG não foi afetado de forma significativa pelo frio, possivelmente porque o estresse não ocorreu na fase de enchimento de grãos e também devido estratégia das plantas de deixarem descendentes viáveis, mesmo sob condições adversas. Esta estratégia também foi observada por Smith et al. (2019) em genótipos de feijão submetidos a seca do florescimento à maturação fisiológica. Os autores encontraram redução na MCG, porém, a composição nutricional das sementes não foi alterada de forma significativa quando afetadas pela seca, enquanto que o teor de nutrientes das folhas reduziram, mostrando que durante o estresse as plantas

priorizaram a produção de sementes viáveis. De Ron et al. (2016), encontraram diferença na massa de 100 grãos de feijão, quando as plantas enfrentaram temperaturas de 8 a 14 °C na germinação e emergência da semente. Como neste trabalho, os autores encontraram também, diferença significativa para NLP. Isso pode indicar que a queda na produtividade causada pelo frio se deve ao abortamento de flores, que conseqüentemente não geram legumes. Para Ferrão et al. (2006), NLP é o componente do rendimento que tem maior influência na queda de produtividade de feijão quando exposto a baixas temperaturas. Em feijão cultivado em regiões frias da Colômbia, este é o componente que tem maior importância na determinação do rendimento (LÓPEZ e LIGARRETO, 2006).

O NLP foi reduzido significativamente pelo frio nas cultivares BRSMG Madrepérola, IAC Milênio, BRS Campeiro e IAC Imperador. No controle não houve diferença entre as cultivares para este caractere. No frio, ANfp 110, IPR Tuiuiú e IAC Imperador apresentaram maior NLP e, BRSMG Madrepérola, o menor (Tabela 3). Diferença significativa para esse caractere também foi encontrado por De Ron et al. (2016) em plantas de feijão que enfrentaram frio na fase inicial de desenvolvimento. Em plantas de grão-de-bico (Fabaceae), temperaturas abaixo de 15 °C provocam o abortamento de flores, o que causa redução no número de legumes por planta e grãos por legume (RANI et al., 2020).

Tabela 3 – Média do número de legumes por planta (NLP) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	NLP			%Redução
	Controle	Frio		
ANFc 9	7,27 Aa	5,20 Ab		28,47
ANfp 110	9,00 Aa	9,40 Aa		-4,44
BRS Campeiro	8,93 Aa	5,93 Bb		33,59
BRSMG Madrepérola	10,47 Aa	2,70 Bc		74,21
IAC Imperador	10,67 Aa	7,30 Ba		31,58
IAC Milênio	9,53 Aa	4,53 Bb		52,47
IPR Tuiuiú	9,53 Aa	7,93 Aa		16,79

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

O NGL foi menor no frio apenas nas cultivares BRSMG Madrepérola e IAC Imperador, ambas do grupo comercial carioca. No controle, este caractere não

diferenciou as cultivares, enquanto que no frio, BRSMG Madrepérola apresentou menor NGL (Tabela 4). Quando o feijão sofre estresse por baixas temperaturas na germinação e emergência das sementes, há redução significativa no NGP (DE RON et al., 2016). O fato de o NGL não ter diminuído significativamente para a maioria das cultivares, indica que a redução da MGP (que ocorre na maioria) é consequência da redução no NLP.

Tabela 4 - Média do número de grãos por legume (NGL) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	NGL		
	Controle	Frio	%Redução
ANFc 9	3,43 Aa	3,14 Aa	8,45
ANfp 110	3,53 Aa	2,91 Aa	17,56
BRS Campeiro	3,76 Aa	3,17 Aa	15,69
BRSMG Madrepérola	4,64 Aa	0,83 Bb	82,11
IAC Imperador	3,96 Aa	2,53 Ba	36,11
IAC Milênio	3,03 Aa	2,96 Aa	2,31
IPR Tuiuiú	4,24 Aa	3,44 Aa	18,87

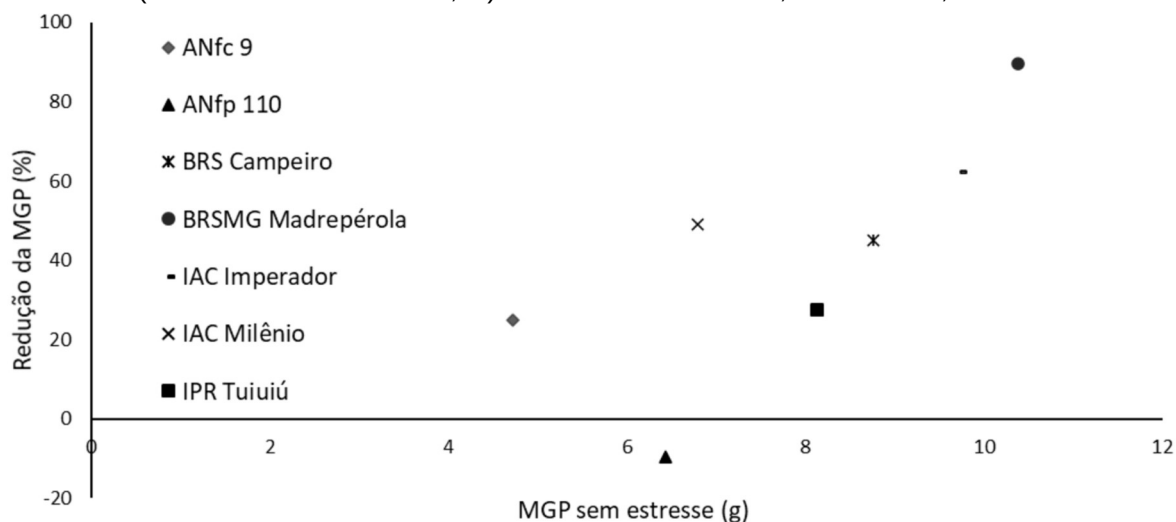
Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

A MGP foi afetada significativamente pelo estresse por frio, e esse componente está diretamente ligado ao rendimento das cultivares. ANfp 110, de tegumento preto, foi única cultivar que apresentou um aumento na MGP no frio (9,64%). As maiores reduções foram observadas em BRSMG Madrepérola (89,69%) e IAC Imperador (62,42%), ambas de tegumento carioca (Figura 4, Tabela 5). Cultivares que apresentaram menor redução na MGP são as que melhor se adaptaram ao estresse, indicando que possuem mecanismos de defesa que foram ativados quando estressadas.

As maiores MGP na condição frio foram das cultivares ANfp 110, IPR Tuiuiú e BRS Campeiro (Tabela 5), todas do grupo comercial preto. No caso de um plantio que haja risco de ocorrência de frio moderado, é indicado que seja implantada alguma dessas cultivares, já que são as mais produtivas nessas condições. Por outro lado, em um programa de melhoramento genético da espécie onde se busque maior tolerância ao frio, a recomendação de possíveis pais usados no cruzamento, é daqueles que têm mais mecanismos de defesa e conseguem se adaptar a essa adversidade. Nesse caso, entre as cultivares estudadas, seriam

indicadas ANfp 110 e IPR Tuiuiú, de tegumento preto e, ANFc 9, de tegumento carioca.

Figura 4 – Massa de grãos por planta de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em condição de não estresse e redução na massa de grãos por planta causada por frio moderado (intensidade de estresse 0,46) em estágio R6. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

Tabela 5 - Média da massa de grãos por planta (MGP) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	MGP			%Redução
	Controle	Frio		
ANFc 9	4,72 Ab	3,54 Ab		25,00
ANfp 110	6,43 Ab	7,05 Aa		-9,64
BRS Campeiro	8,76 Aa	4,82 Ba		44,98
BRSMG Madrepérola	10,38 Aa	1,07 Bb		89,69
IAC Imperador	9,74 Aa	3,66 Bb		62,42
IAC Milênio	6,80 Ab	3,46 Bb		49,12
IPR Tuiuiú	8,14 Aa	5,90 Aa		27,52

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

O NGFL aumentou em todas as cultivares na condição frio, mas de forma significativa, apenas em BRSMG Madrepérola e IAC Imperador, cariocas (Tabela 6). Essas duas cultivares também foram as que tiveram maior redução na MGP e NGL.

Tabela 6 - Média do número de grãos falhos por legume (NGFL) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	NGFL		
	Controle	Frio	%Aumento
ANFc 9	2,66 A	3,31 A	24,44
ANfp 110	2,18 A	2,64 A	21,10
BRS Campeiro	2,23 A	2,88 A	29,15
BRSMG Madrepérola	1,92 B	3,79 A	97,40
IAC Imperador	1,96 B	3,36 A	71,43
IAC Milênio	2,90 A	3,52 A	21,38
IPR Tuiuiú	1,85 A	2,36 A	27,57

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

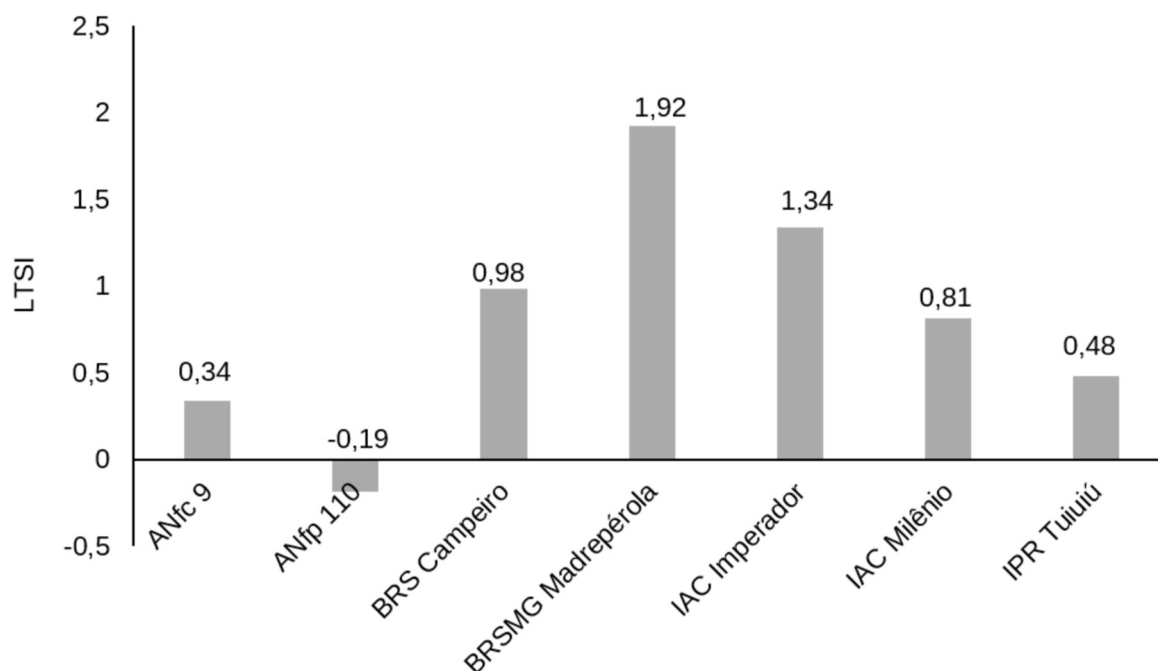
Para os índices calculados a partir dos componentes do rendimento, não houve diferença significativa entre as cultivares para GFI e MP. Com diferença significativa para LTSI ($p < 0,05$) (Tabela 7), é possível observar maior suscetibilidade das cultivares BRSMG Madrepérola e IAC Imperador, ambas cariocas, enquanto que ANfp 110, preto, teve suscetibilidade negativa (Figura 5), com melhor desempenho na condição frio. A maior sensibilidade das cultivares acompanha a redução dos componentes de rendimento, principalmente MGP e NLP. LTSI possui correlação positiva significativa com a MGP no controle, o que mostra, como esperado, que cultivares mais produtivas em condições ideais são mais suscetíveis ao estresse, por isso, também há correlação significativa positiva entre MGP (controle) e YRR, e negativa para MGP (controle) e YSI (APÊNDICE A).

Tabela 7 – Resumo da análise de variância para índices de componentes do rendimento de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Fonte de variação	GL	QM						
		GFI	LTSI	LTTI	MP	GMP	YRR	YSI
Cultivar	6	1058,17ns	1,44*	2,21*	3,50ns	6,30**	3079,81*	0,31*
Erro	12	1044,43	0,41	0,63	1,29	1,21	872,47	0,09
CV (%)		33,28	78,47	20,97	18,81	20,43	78,47	47,37

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade de erro e não significativo, respectivamente. GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; GFI: índice de enchimento de grãos; LTSI: índice de suscetibilidade a baixas temperaturas; LTTI: índice de tolerância a baixas temperaturas; MP: produtividade média; GMP: produtividade média geométrica; YRR: taxa de redução de rendimento; YSI: índice de estabilidade de rendimento; CV(%): coeficiente de variação. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

Figura 5 – Índice de suscetibilidade a baixas temperaturas (LTSI) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

Como esperado, as cultivares com maior YRR apresentaram menor YSI, e vice-versa. BRSMG Madrepérola e IAC Imperador, ambas de tegumento carioca, apresentaram maior YRR quando submetidas ao resfriamento em R6, portanto, foram as menos estáveis sob esse estresse. ANfp 110 foi a única cultivar que manteve seu desempenho quando estressada, apresentando a menor redução de rendimento (YRR) quando submetida ao frio. LTTI mostrou que IPR Tuiuiú, BRS Campeiro, ANfp 110, todas do grupo comercial preto, e IAC Imperador, grupo comercial carioca, tiveram a maior tolerância ao estresse. Essas mesmas cultivares apresentaram maior GMP (Tabela 8). O LTTI apresenta correlação positiva significativa com o NLP no frio (APÊNDICE A), ou seja, quanto mais legumes a planta for capaz de produzir na condição frio, maior será sua tolerância ao estresse. Esses índices indicam uma tendência a melhor resposta ao resfriamento por cultivares de tegumento preto.

Tabela 8 – Média do índice de tolerância a baixas temperaturas (LTTI), da produtividade média geométrica (GMP), da taxa de redução de rendimento (YRR) e do índice de estabilidade de rendimento (YSI) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	LTTI	GMP	YRR	YSI
ANFc 9	0,90	4,00	15,89	0,84
ANfp 110	2,51	6,68	-8,78	1,09
BRS Campeiro	2,53	6,41	45,25	0,55
BRSMG Madrepérola	0,62	3,23	89,03	0,11
IAC Imperador	2,02	5,97	62,19	0,38
IAC Milênio	1,18	4,51	37,46	0,62
IPR Tuiuiú	2,66	6,87	22,46	0,78

Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

4.2 ANÁLISES FISIOLÓGICAS

4.2.1 Concentração de açúcares solúveis totais e prolina

A concentração de AST não foi significativa entre as cultivares e nem entre as condições térmicas, enquanto que a concentração de prolina diferenciou as condições ($p < 0,05$), porém não diferenciou as cultivares (Tabela 9). Soliman et al. (2018) encontraram aumento significativo no teor de AST e prolina em feijão exposto a baixas temperaturas em fase vegetativa. A concentração de ambos foi maior quanto mais tempo as plantas passaram sob estresse. Os autores encontraram também maior acúmulo das substâncias quando ácido acetilsalicílico exógeno foi aplicado via foliar 24 h antes do estresse.

Tabela 9 - Resumo da análise de variância para caracteres fisiológicos de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Fonte de variação	GL	QM	
		AST	PRO
Condição	1	0,0013ns	0,0101*
Cultivar	6	0,020ns	0,0012ns
Condição X Cultivar	6	0,0024ns	0,012ns
Erro	26	0,036	0,016
CV (%)		147,98	30,41

* e ns: significativo a 5% de probabilidade de erro e não significativo, respectivamente. GL: graus de liberdade; QM: quadrado médio; AST: concentração de açúcares solúveis totais ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de material fresco); PRO: concentração de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de material fresco); CV(%): coeficiente de variação. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

A concentração de prolina aumentou em todas as cultivares quando expostas ao frio, exceto ANFc 9, mas de forma significativa apenas em BRS Campeiro (Tabela 10). Sob temperatura de 2 °C, a concentração de prolina em feijão aumentou significativamente em dois e em quatro dias no frio, enquanto que o total de aminoácidos livres e conteúdo de proteína diminuíram quanto mais drástico foi o estresse (SOLIMAN et al., 2018). Além de osmólito protetor, o acúmulo de prolina também está ligado a redução do estresse oxidativo, sendo considerado um potencial antioxidante. A aplicação exógena de prolina melhorou a resposta de plantas a estresses abióticos e, pode induzir a síntese endógena da substância (ZULFIQAR e ASHRAF, 2021).

Tabela 10 - Média da concentração de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de material fresco) em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Cultivar	[Prolina]		
	Controle	Frio	%Aumento
ANFc 9	0,15 A	0,15 A	-0,75
ANfp 110	0,13 A	0,14 A	6,47
BRS Campeiro	0,10 B	0,18 A	85,22
BRSMG Madrepérola	0,11 A	0,12 A	18,55
IAC Imperador	0,13 A	0,15 A	19,90
IAC Milênio	0,10 A	0,13 A	29,14
IPR Tuiuiú	0,12 A	0,17 A	45,15

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

4.2.2 Atividade enzimática

A atividade das enzimas de eliminação de ROS não foi analisada em IAC Milênio pelo seu comportamento intermediário nas análises agronômicas, tendo sido analisadas as cultivares com comportamentos extremos nos componentes do rendimento quando expostas ao frio. A atividade enzimática da CAT foi significativa ($p < 0,01$) tanto para condições quanto para cultivares, mas não para a interação. Atividade da POD mostrou significância para condições ($p < 0,05$), cultivares e interação ($p < 0,01$), enquanto que SOD foi não significativa para todos os fatores (Tabela 11).

Tabela 11 - Resumo da análise de variância para atividade enzimática de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

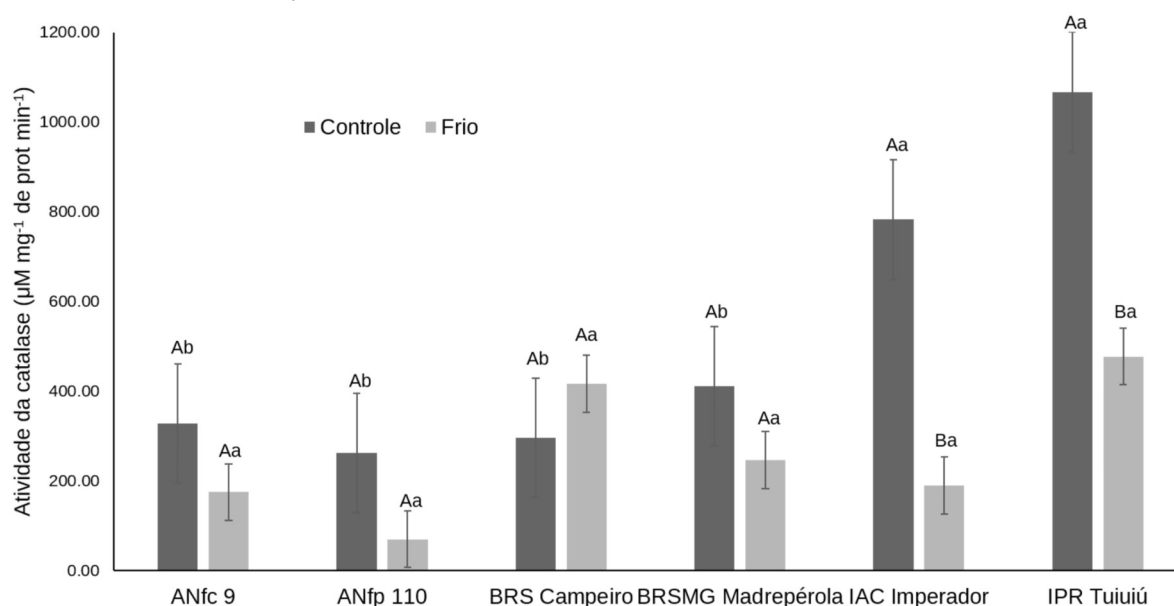
Fonte de variação	GL	QM		
		CAT	POD	SOD
Condição	1	617228,59**	7063402,32*	0,00054ns
Cultivar	5	274886,89**	15294823,19**	0,0019ns
Condição X Cultivar	5	116839,06ns	10664341,61**	0,0004ns
Erro	22	48485,42	1548390,15	0,00086
CV (%)		55,91	33,59	39,57

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade de erro e não significativo, respectivamente. GL: graus de liberdade; CAT: atividade enzimática da catalase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}), POD: atividade enzimática da peroxidase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}), SOD: atividade enzimática da superóxido dismutase (U mg^{-1} prot min^{-1}); CV(%): coeficiente de variação. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

A atividade da CAT foi menor quando as cultivares passaram pelo estresse por frio, exceto para BRS Campeiro. Porém, a redução foi significativa apenas para IAC Imperador e IPR Tuiuiú (Figura 6). BRSMG Madrepérola e BRS Campeiro foram as cultivares com menor redução da atividade de CAT quando expostas ao frio, 39,96% e -40,70%, respectivamente. Essas cultivares estão entre as que apresentaram maior LTSI. Ao contrário, ANfp 110 que teve alta redução na atividade dessa enzima no estresse (73,09%) teve o menor LTSI. A atividade enzimática da CAT não teve correlação significativa com os componentes do rendimento.

Em estudos anteriores com feijão submetido a baixas temperaturas em estádio vegetativo, também houve redução na atividade enzimática da CAT. Houve mais redução quanto maior foi o tempo em que as plantas foram estressadas (SOLIMAN et al., 2018). Por outro lado, em grão-de-bico (Fabaceae), que também é sensível a baixas temperaturas, uma maior atividade da catalase pode estar relacionada com tolerância ao estresse por frio (KAUR et al., 2009). A aplicação exógena de óxido nítrico em duas espécies forrageiras, *Medicago sativa* subsp. *falcata* e *Medicago truncatula*, sob tratamento de frio, aumentou a atividade da CAT e melhorou a resposta ao estresse em ambas (ZHANG et al., 2019).

Figura 6 – Atividade enzimática da catalase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}) em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

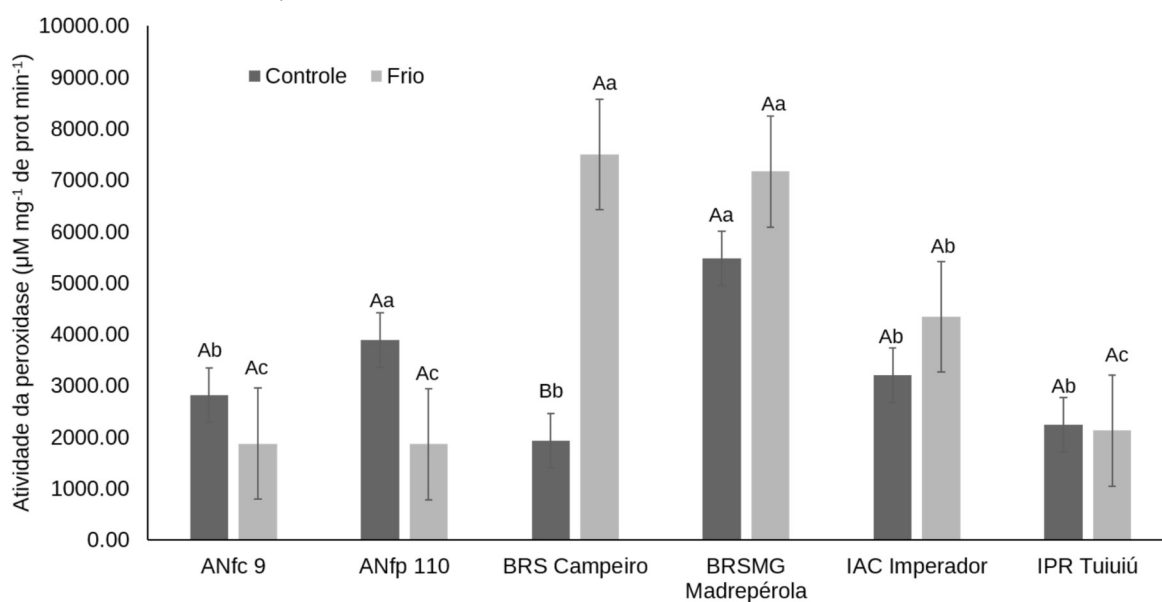


Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si as condições térmicas para cada cultivar a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si as cultivares dentro de cada condição térmica a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

A atividade da POD sofreu aumento nas cultivares BRS Campeiro, BRSMG Madrepérola e IAC Imperador, mas apenas na primeira de forma significativa, enquanto que as demais cultivares, apresentaram redução de atividade dessa enzima, quando submetidas ao estresse por frio. ANfp 110 e BRSMG Madrepérola têm a maior atividade enzimática de POD no controle, porém no frio, ANfp 110 tem a menor atividade de POD, junto com ANFc 9 e IPR Tuiuiú (Figura 7). A atividade de POD teve maior aumento após o estresse nas cultivares com maior LTSI.

A atividade da POD diminuiu em dois, e aumentou em quatro dias de exposição ao frio em feijão na fase vegetativa, de forma significativa (SOLIMAN et al., 2018). A aplicação de bioestimulantes em plantas de feijão que crescem a temperaturas subótimas ($<20\text{ }^{\circ}\text{C}$) pode aumentar a atividade de POD, em estágio vegetativo, oferecendo maior proteção celular contra estresse oxidativo (ROSA et al., 2020). Em grãos de feijão armazenados por 120 dias a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ não houve alteração na atividade enzimática de POD quando comparados com grãos não armazenados (MUJICA et al., 2017).

Figura 7 – Atividade enzimática da peroxidase ($\mu\text{M mg}^{-1}$ de prot min^{-1}) em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.



Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si as condições térmicas para cada cultivar a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si as cultivares dentro de cada condição térmica a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

Apesar de a análise de variância não ser significativa para nenhum dos fatores para SOD (Tabela 11), a atividade dessa enzima mostrou correlação significativa com vários dos componentes do rendimento. Sua atividade, tanto frio quanto no controle, tem correlação positiva ($p < 0,05$) com o NGL no controle. No frio, porém, a atividade de SOD tem correlação significativa negativa com NGL no frio (-0,92), GFI (-0,98) e YSI (-0,90), e positiva com LTSI (0,90) e YRR (0,90) (APÊNDICE A), mostrando que a alta atividade dessa enzima sob estresse está fortemente relacionada com a sensibilidade do feijão a baixas temperaturas.

Em plantas de tremoço-amarelo (*Lupinus luteus* – Fabaceae) submetidas a deficiência hídrica na quinta semana após a semeadura, houve aumento significativo de H_2O_2 , produto catalisado pela SOD, na zona de abscisão floral, seguida de queda das flores e consequente redução de rendimento (WILMOWICZ et al., 2019). Em feijão, a atividade enzimática da SOD aumentou significativamente em plantas submetidas a dois dias de estresse por frio, mas não quando passaram quatro dias sob baixas temperaturas. A aplicação exógena de ácido acetilsalicílico (SOLIMAN et al., 2018) ou de bioestimulantes (ROSA et al.,

2020) aumenta a atividade da SOD em plantas estressadas.

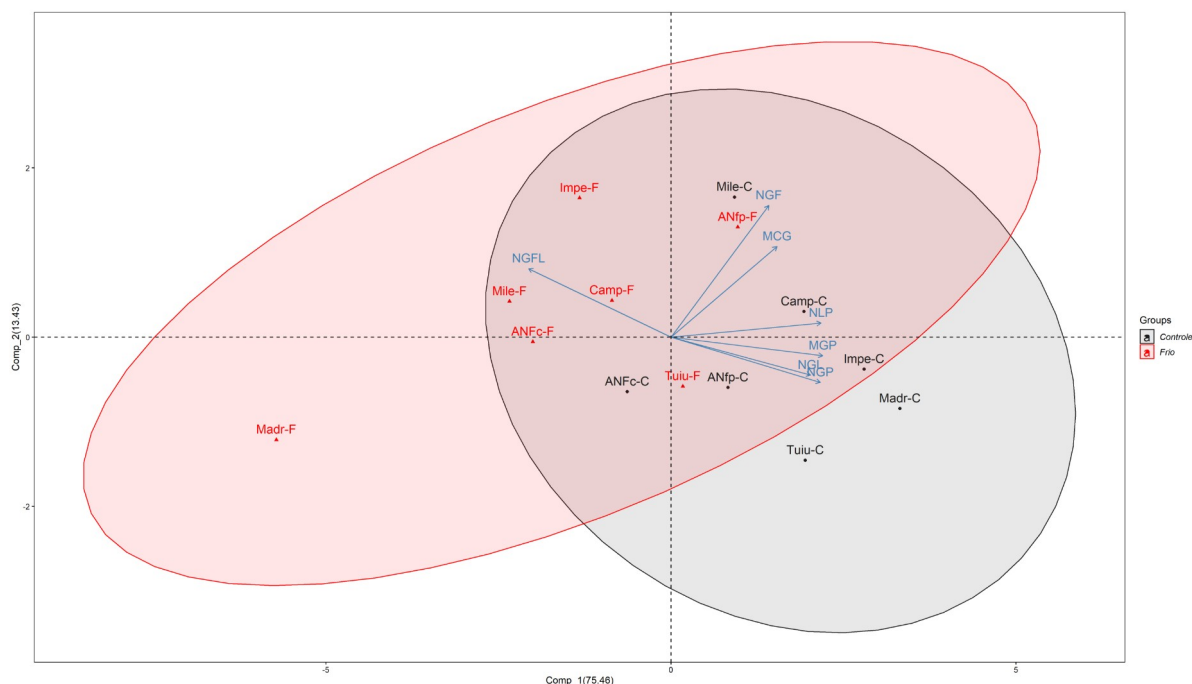
4.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

A análise de componentes principais (Figura 8) revela que o primeiro e segundo componente principal explicam 51,74% e 17,07% da diferença entre as cultivares, respectivamente. Analisando todo o conjunto de caracteres, as cultivares que tiveram melhor desempenho na condição frio foram ANfp 110 e IPR Tuiuiú, ambas de tegumento preto. No controle, os melhores desempenhos foram das cultivares BRSMG Madrepérola, IAC Imperador e IPR Tuiuiú, devido, principalmente ao NGP, MGP e atividade da CAT nessa condição. Essas cultivares, no controle, apresentaram os maiores valores para tais caracteres, e todos apresentaram queda, quando as cultivares foram submetidas ao frio.

No frio, BRSMG Madrepérola, ANFc 9, BRS Campeiro e IAC Imperador apresentaram pior desempenho, sendo afetadas, principalmente, pela atividade de POD, que foi maior nessas cultivares na condição. Já no controle, a pior cultivar foi ANFc 9, influenciada pelo teor de prolina, que foi o mais baixo no controle. De maneira geral, os caracteres que mais influenciaram o desempenho ruim das cultivares no frio foram a atividade da POD, NGFL e o teor de prolina das amostras. Na dimensão 1 as variáveis MGP, NGP e NLP contribuíram com pouco mais de 15% cada, enquanto que na dimensão 2, SOD teve uma contribuição superior a 36%.

gráfico teve pouco mais de 45% de contribuição dividida, de forma muito parecida, entre os caracteres MGP, NGP e NLP, já na dimensão 2, NGF apresentou cerca de 50% de contribuição.

Figura 9 – Análise de componentes principais dos componentes do rendimento de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.



ANFc-C e ANFc-F: ANFc 9 no controle e no frio, respectivamente; ANfp-C e ANfp-F: ANfp 110 no controle e no frio, respectivamente; Camp-C e Camp-F: BRS Campeiro no controle e no frio, respectivamente; Madr-C e Madr-F: BRSMG Madrepérola no controle e no frio, respectivamente; Impe-C e Impe-F: IAC Imperador no controle e no frio, respectivamente; Mile-C e Mile-F: IAC Milênio no controle e no frio, respectivamente; Tuiu-C e Tuiu-F: IPR Tuiuiu no controle e no frio, respectivamente; NLP: número de legumes por planta; NGF: número de grãos falhos por planta; NGFL: número de grãos falhos por legume; NGP: número de grãos por planta; NGL: número de grãos por legume; MGP: massa de grãos por planta; MCG: massa de cem grãos. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

Ambas análises de componentes principais confirmam a grande sensibilidade de BRSMG Madrepérola ao frio no florescimento, pois teve comportamento oposto em cada condição, sendo a melhor e a pior cultivar no controle e no frio, respectivamente. Também nessa análise, é possível perceber que ANfp 110 foi a única cultivar com desempenho superior no frio que no controle.

5 CONCLUSÕES

Entre as cultivares estudadas, BRSMG Madrepérola e IAC Imperador são as mais sensíveis ao estresse por frio no estágio reprodutivo, enquanto que ANFc 9 e ANfp 110 são as mais tolerantes.

O componente do rendimento mais prejudicado no estresse por frio no estágio reprodutivo é o número de legumes por planta.

A maior síntese de prolina e AST pelas plantas estressadas por frio não refletiu em maior tolerância das cultivares.

A baixa atividade de SOD na condição frio melhorou a tolerância das plantas ao estresse.

ANfp 110 e IPR Tuiuiú, por apresentarem tegumento de mesma cor, podem ser cruzados na busca de um genótipo com maior tolerância a baixas temperaturas.

BRSMG Madrepérola e ANfp 110 podem ser usadas como testemunhas sensível e tolerante, respectivamente, em ensaios que visem a identificação de progênies com maior e menor sensibilidade ao frio.

REFERÊNCIAS

- AGRO NORTE. **Pesquisas e Sementes**. 2021. Disponível em: <<http://www.agronorte.com.br/Inicio>>. Acesso em: 06 jan. 2021.
- ASSEFA, T.; MAHAMA, A. A., BROWN, A. V., CANNON, E. K. S., RUBYOGO, J. C., RAO, I. M. et al. A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v.39, n.20, 2019.
- BARAJAS-LOPEZ, J. D.; TIWARI, A.; ZARZA, X.; SHAW, M. W.; PASCUAL, J.; PUNKKINEN, M. et al. Early response to dehydration 7 remodels cell membrane lipid composition during cold stress in Arabidopsis, **Plant & Cell Physiology**, 2020.
- BASTOS, F. J. C.; SOARES, F. A. L.; SOUSA, C. V.; TAVARES, C. J.; TEIXEIRA, M. B.; SOUSA, A. E. C. Common bean yield under water suppression and application of osmoprotectants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.8, p.697-701, 2016.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, L. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BEEBE, S. E.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n. 35, 2013.
- BETTINI, M. O.; COSCOLIN, R. B. S.; BRESSAN, D. F.; GOMES, E. R.; BROETTO, F. **Enzimas antioxidativas em tecidos vegetais**. In: BROETTO, F. (Coordenador). Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas. Botucatu: IBB/UNESP, Cultura Acadêmica, p. 29-34, 2014.
- BHANDARI, K.; SHARMA, K. D.; RAO, B. H.; SIDDIQUE, K. H. M.; GAUR, P.; AGRAWAL, S. K. Temperature sensitivity of food legumes: a physiological insight. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.39, n.68, 2017.
- BRADFORD, M. M. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, v.252, p.55-128, 2003.
- CARVALHO, J. J.; SAAD, J. C. C.; CUNHA, F. N.; da SILVA, N. F.; TEIXEIRA, M. B. Manejo da irrigação no feijoeiro, cultivado em semeadura direta e convencional. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v.8, n.1, p.52-63, 2014.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Série histórica das safras: Feijão Total (1ª, 2ª e 3ª safras)**, 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>>. Acesso em: 23 dez. 2020.
- CONAFER – Confederação Nacional dos Agricultores familiares. **Feijão, o alimento**

mais brasileiro mostra a força da agricultura familiar, 2020. Disponível em: <<https://conifer.org.br/2020/06/23/feijao-o-alimento-mais-brasileiro-mostra-a-forca-da-agricultura-familiar/>>. Acesso em: 23 dez. 2020.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DA CONCEIÇÃO, C. G.; ROBAINA, A. D.; PEITER, M. X.; PARIZI, A. R. C.; da CONCEIÇÃO J. A.; BRUNING, J. Economically optimal water depth and grain yield of common bean subjected to different irrigation depths. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.22, n.7, p.482-487, 2018.

DA SILVA, H. T.; COSTA, A. L. **Caracterização Botânica de Espécies Silvestres do Gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae)**. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, 2003.

DARKWA, K.; AMBACHEW, D.; MOHAMMED, H.; ASFAW, H.; BLAIR, M. W. Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia. **The Crop Journal**, v.4, p.367-376, 2016.

DE RON, A. M.; RODIÑO, A. P.; SANTALLA, M.; GONZÁLEZ, A. M.; LEMA, M. J.; MARTÍN, I.; KIGEL, J. Seedling emergence and phenotypic response of common bean germplasm to different temperatures under controlled conditions and in open field. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1087, 2016.

DERAL – Departamento de Economia Rural. **Boletim informativo – Feijão**. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/qas/5596/feijao_seca_26_maios_2017.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2020.

DING, Y.; SHI, Y.; YANG, S. Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants. **New Phytologist**, v.222, p.1690-1704, 2019.

DIPP, C. C.; MARCHESE, J. A.; WOYANN, L. G.; BOSSE, M. A.; ROMAN, M. H.; GOBATO, D. R. et al. Drought stress tolerance in common bean: what about highly cultivated Brazilian genotypes?. **Euphytica**, v.213, n.102, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **BRS Campeiro: Nova Cultivar de Feijoeiro Comum de Grão Preto, Indicado Para o Sul do Brasil**. [S.I.], 2003.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **BRSMG Madrepérola: Cultiva de Feijão Tipo Carioca com Escurecimento Tardio dos Grãos**. [S.I.], 2011.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2ª Ed. Brasília, 2014. 247p.

FANCELLI, A. L.; NETO, D. D. **Produção de feijão**. [S.I.]: Livroceres. 2007. 386p.

FAEP – Federação da Agricultura do Estado do Paraná. **Geada atinge produção de feijão e pode mudar preço em plena safra**. 2017. Disponível em: <<https://sistemafaep.org.br/geada-atinge-producao-de-feijao-e-pode-mudar-preco-em-plena-safra/>>. Acesso em: 29 dez. 2020.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Climate change**. 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/climate-change/en/>>. Acesso em: 30 dez. 2020.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT – Crops**, 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 23 dez. 2020.

FERRÃO, M. A. G.; VIEIRA, C.; CRUZ, C. D.; CARDOSO, A. A. Comportamento de cultivares de feijão e de suas gerações híbridas, no inverno. **Ceres**, v.53, n.306, p.251-259, 2206.

FLURKEY, W. H.; JEN, J. J. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 6, p. 1826-1828, 1978.

FOLHA AGRÍCOLA. **Desafios Para a Cultura do Feijão**, 2017. Disponível em: <<http://www.folhaagricola.com.br/noticia/desafios-para-a-cultura-do-feijao>>. Acesso em: 09 mar. 2021.

GEPTS, P.; OSBORN, T. C.; RASHKA, K.; BLISS, F. A. Phaseolin-protein Variability in Wild Forms and Landraces of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Evidence for Multiple Centers of Domestication. **Economic Botany**, v.40, n.4, p.451-468, 1986.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GUO, X.; LIU, D.; CHONG, K. Cold signaling in plants: Insights into mechanisms and regulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.60, p. 745-756, 2018.

HARDWICK, R. C.; ANDREWS, D. J. Selection for cold tolerance in *Phaseolus vulgaris* — yields of selected lines grown in warm and cool environments. **Annals of Applied Biology**, v.95, n.2, p.249–259, 1980.

HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HOSHIKA, Y.; DE MARCO, A.; MATERASSI, A.; PAOLETTI, E. Light intensity affects ozone-induced stomatal sluggishness in snapbean. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.227, n.419, 2016.

IAC – Instituto Agronômico de Campinas. **Centro de Grãos e Fibras – Cultivares de Feijoeiro IAC**. 2021. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/graos/feijao.php>>. Acesso em: 06 jan. 2021.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. **Principais Características das**

Cultivares de Feijão com Sementes Disponíveis no Mercado. 2021. Disponível em: <<http://www.iapar.br/pagina-1363.html>>. Acesso em: 06 jan. 2021.

ICARDA – Science for resilient livelihoods in dry areas. **Pulses are nutritional and affordable for the poor.** 2016. Disponível em: <<https://www.icarda.org/media/news/pulses-are-nutrition-rich-and-affordable-poor#:~:text=Pulses%20are%20known%20as%20the,crop%20as%20their%20staple%20food.>>. Acesso em: 22 dez. 2020.

JONHSON, K. L. Baby, it's cold inside: maintaining membrane integrity during freezing, **Plant Physiology**, v.177, p.1350-1351, 2018.

JOUDMAND, A.; HAJIBOLAND, R. Silicon mitigates cold stress in barley plants via modifying the activity of apoplasmic enzymes and concentration of metabolites. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.41, n.29, 2019.

KASSAMBARA, A. & MUNDT, F. 2017. **Package factoextra: extract and visualize the Results of Multivariate Data Analyses.** R package version 1.0.5.

KATUURAMU, D. N.; HART, J. P.; PORCH, T. G.; GRUSAK, M. A.; GLAHN, R. P.; CICHY, K. A. Genome-wide association analysis of nutritional composition-related traits and iron bioavailability in cooked dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v.38, n.44, 2018.

KAUR, S.; GUPTA, A. K.; KAUR, N.; SANDHU, J. S.; GUPTA, S. K. Antioxidative enzymes and sucrose synthase contribute to cold stress tolerance in chickpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.195, n.5, p.393-397, 2009.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. **Journal of Statistical Software**, v.25, 2008.

LIN, Q.; XIE, Y.; GUAN, W.; DUAN, Y.; WANG, Z.; SUN, C. Combined transcriptomic and proteomic analysis of cold stress induced sugar accumulation and heat shock proteins expression during postharvest potato tuber storage. **Food Chemistry**, v.297, 2019.

LIU, J.; SHI, Y.; YANG, S. Insights into the regulation of C-repeat binding factors in plant cold signaling. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.60, p.780-795, 2018.

LÓPEZ, J. E.; LIGARRETO, G. A. Evaluación por rendimiento de 12 genotipos promisorios de frijol voluble (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo Bola y Reventón para las zonas frías de Colombia. **Agronomía Colombiana**, v.24, n.2, p.238-246, 2006.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Safra vigente – Portarias**, 2020b. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/@@search?Subject%3Alist=Portarias>>. Acesso em: 23 dez. 2020.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Zoneamento agrícola**, 2020a. Disponível em:

<<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/riscos-seguro/programa-nacional-de-zoneamento-agricola-de-risco-climatico/zoneamento-agricola#:~:text=O%20Zoneamento%20Agr%C3%Adcola%20de%20Risco,gest%C3%A3o%20de>>

%20riscos%20na%20agricultura.&text=O%20Zoneamento%20Agr%C3%Adcola %20de%20Risco%20Clim%C3%A1tico%20foi%20publicado%20pela %20primeira,para%20a%20cultura%20do%20trigo.>. Acesso em: 23 dez. 2020.

MOTSNYI, I. I.; LYTVYNENKO, M. A.; MOLODCHENKOVA, O. O.; SOKOLOV, V. M.; FAYT, V. I.; SECHNIAK, V. Y. Development of winter wheat starting material using interspecific crossing in breeding for increased protein content. **Cytology and Genetics**, v.53, n.2, p.113–123, 2019.

MUJICA, M. V.; GRANITO, M.; SOTO, N. Peroxidase relationship with bean hardening of *Phaseolus vulgaris* L. and its thermal kinetic inactivation. **Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia**, v.34, n.3, p.325-347, 2017.

NÓIA JÚNIOR, R. S.; do AMARAL, G. C.; PEZZOPANE, J. E. M.; TOLEDO, J. V.; XAVIER, T. M. T. Ecophysiology of C3 and C4 plants in terms of response to extreme soil temperatures. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v.30, n. 3, 2018.

OLIVEIRA, M. G. C.; de OLIVEIRA, L. F. C.; WENDLAND, A.; GUIMARÃES, C. M.; QUINTELA, E. D.; BARBOSA, F. R. et al. **Conhecendo a Fenologia do Feijoeiro e Seus Aspectos Fitotécnicos**. Embrapa Arroz e Feijão, Brasília, DF, 2018.

PINHEIRO, C.; BAETA, J. P.; PEREIRA, A. M.; DOMINGUES, H.; RICARDO, C. P. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm, **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.319-325, 2010.

POPOV, V. N.; ANTIPINA, O. V.; PCHELKIN, V. P.; TSYDENDAMBAEV, V. D. Changes in fatty acid composition of lipids in chloroplast membranes of tobacco plants during cold hardening. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.64, n.2, p.156–161, 2017.

RANI, A.; DEVI, P.; JHA, U. C.; SHARMA, K. D.; SIDDIQUE, K. H. M.; NAYYAR, H. Developing Climate-Resilient Chickpea Involving Physiological and Molecular Approaches With a Focus on Temperature and Drought Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v.10, n.1759, 2020.

RENDÓN-ANAYA, M.; MONTERO-VARGAS, J. M.; SABURIDO-ÁLVAREZ, S.; VLASOVA, A.; CAPELLA-GUTIERREZ, S.; ORDAZ-ORTIZ, J. J. et al. Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. **Genome Biology**, v.18, n.60, 2017.

RIHAN, H. Z.; AL-ISSAWI, M.; FULLER, M. P. Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance. **Journal of Plant Interactions**, v.12, n.1, p.143-157, 2017.

ROSA, V. do R.; dos SANTOS, A. L. F.; da SILVA, A. A.; SAB, M. P. V.; CARDOSO, F. B.; MARIN, M. A. et al. Enhanced tolerance to cold in common bean treated with biostimulant. **Gesunde Pflanzen**, 2020.

RSTUDIO TEAM. **A single home for R and Python Data Science Teams**. 2021. Disponível em: <<https://rstudio.com/products/team/>>. Acesso em: 01 fev. 2021.

RUELLAND, E.; VAULTIER, M. N.; ZACHOWSKI, A.; HURRY, V. Cold signalling and cold acclimation in plants. **Advances in Botanical Research**, v.49, p.35–150, 2009.

SBCS – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. **Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná**. 2ed., 482p. Curitiba, 2017.

SCHMUTZ, J.; MCCLEAN, P. E.; MAMIDI, S.; WU, G. A.; CANNON, S. B.; GRIMWOOD, J. et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications, **Nature Genetics**, v.46, n.7, p. 707-713, 2014.

SHI, Y.; DING, Y.; YANG, S. Molecular regulation of CBF signaling in cold acclimation. **Trends in Plant Science**, v.23, n.7, p.623-637, 2018b.

SHI, Y.; YUE, X.; AN, L. Integrated regulation triggered by a cryophyte ω -3 desaturase gene confers multiple-stress tolerance in tobacco. **Journal of Experimental Botany**, v.69, n.8, p.2131–2148, 2018a.

SIN'KEVICH, M. S.; SELIVANOV, A. A.; ANTIPINA, O. V.; KROPOCHEVA, E. V.; ALIEVA, G. P.; SUVOROVA, T. A. et al. Activities of antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* plants during cold hardening to hypothermia. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.63, n.6, p.749-753, 2016.

SMITH, M. R.; VENEKLAAS, E.; POLANIA, J.; RAO, I. M.; BEEBE, S. E.; MERCHANT, A. Field drought conditions impact yield but not nutritional quality of the seed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plos One**, v.14, n.6, 2019.

SOLIMAN, M. H.; ALAYAFI, A. A. M.; EL KELISH, A. A.; ABU-ELSAOUD, A. M. Acetylsalicylic acid enhance tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. to chilling stress, improving photosynthesis, antioxidants and expression of cold stress responsive genes. **Botanical Studies**, v.59, n.6, 2018.

SOUTER, J. R.; GURUSAMY, V.; PORCH, T. G.; BETT, K. E. Successful introgression of abiotic stress tolerance from wild tepary bean to common bean. **Crop Science**, v.57, p.1160-1171, 2017.

SUÁREZ, J. C.; POLANÍA, J. A.; CONTRERAS, A. T.; RODRÍGUEZ, L.; MACHADO, L.; ORDOÑEZ, C.; et al. Adaptation of common bean lines to high temperature conditions: genotypic differences in phenological and agronomic performance. **Euphytica**, v.216, n. 28, 2020.

TIRYAKI, D., AYDIN, I, ATICI, Ö. Psychrotolerant bacteria isolated from the leaf apoplast of cold-adapted wild plants improve the cold resistance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under low temperature. **Cryobiology**, v. 86, p. 111-119, 2019.

TROPICOS. 2020. Disponível em: <<https://www.tropicos.org/name/Search?name=Phaseolus%20vulgaris>>. Acesso em: 16 dez. 2020.

TURHAN, E.; AYDOGAN, C.; AKOGLU, A.; BAYKUL, A.; EVRENOSOGLU, Y. Relationship of seasonal changes in antioxidative enzymes and cold-hardiness in strawberry plant. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.10, p.445-450, 2012.

VIEIRA, C.; ARAÚJO, G. A. de A.; CARDOSO, A. A. Triagem de germoplasma de

feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em busca de fontes de tolerância à baixa temperatura – II. **Revista Ceres**, v.47, n.271, p.337-348, 2000.

WANG, D. Z.; JIN, Y. N.; DING, X. H.; WANG, W. J.; ZHAI, S. S.; BAI, L. P. et al. Gene regulation and signal transduction in the ICE–CBF–COR signaling pathway during cold stress in plants. **Biochemistry**, v.82, n.10, p.1103-1117, 2017.

WEIDNER, S.; KRÓL, A.; KARAMAC, M.; AMAROWICZ, R. Phenolic compounds and the antioxidant properties in seeds of green- and yellow-podded bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **CYTA – Journal of Food**, v.16, n.1, p.373-380, 2018.

WILMOWICZ, E.; KUCKO, A.; BURCHARDT, S.; PRZYWIECZERSKI, T. Molecular and hormonal aspects of drought-triggered flower shedding in yellow lupine. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, n.3731, 2019.

YANG, H.; WANG, T.; YU, X.; YANG, Y.; WANG, C.; YANG, Q.; et al. Enhanced sugar accumulation and regulated plant hormone signalling genes contribute to cold tolerance in hypoploid *Saccharum spontaneum*. **BMC Genomics**, v.21, n.507, 2020.

YANG, Q. Q.; GAN, R. Y.; GE, Y. Y.; ZHANG, D.; CORKE, H. Polyphenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.17, p.1518-1539, 2018.

ZHANG, P.; LI, S.; ZHAO, P.; GUO, Z.; LU, S. Comparative physiological analysis reveals the role of NR-derived nitric oxide in the cold tolerance of forage legumes. **International Journal of Molecular Science**, v. 20, n.6, 2019.

ZHAO, L.; YANG, T.; XING, C.; DONG, H.; QI, K.; GAO, J.; et al. The β -amylase *PbrBAM3* from pear (*Pyrus betulaefolia*) regulates soluble sugar accumulation and ROS homeostasis in response to cold stress. **Plant Science**, v. 287, 2019.

ZHUO, X.; ZHENG, T.; ZHANG, Z.; ZHANG, Y.; JIANG, L.; AHMAD, S. et al. Genome-wide analysis of the NAC transcription factor gene family reveals differential expression patterns and cold-stress responses in the woody plant *Prunus mume*. **Genes**, v.9, n.494, 2018.

ZULFIQAR, F.; ASHRAR, M. Bioregulators: unlocking their potential role in regulation of the plant oxidative defense system. **Plant Molecular Biology**, v.105, p.11-41, 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Script gerado para análise de componentes principais de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

```
library("FactoMineR")
library("devtools")
install_github("kassambara/factoextra")
library("factoextra")
library(ggplot2)

theme<-theme(panel.background = element_blank(),
             panel.border=element_rect(fill=NA),
             panel.grid.major = element_blank(),
             panel.grid.minor = element_blank(),
             strip.background=element_blank(),
             axis.text.x=element_text(colour="black"),
             axis.text.y=element_text(colour="black"),
             axis.ticks=element_line(colour="black"),
             plot.margin=unit(c(1,1,1,1),"line"),
             legend.text = element_text( size = 10, face = "italic"))

donA<-read.table("dados.txt", header=T)
donA
colnames(donA)

donA <- na.omit(donA)

res.pca <- PCA(donA[-c(1,2)], graph = FALSE)

rownames(res.pca$ind$coord)<-(donA$Cultivar)
eigenvalues <- res.pca$eig
head(eigenvalues[, 1:2])
var <- get_pca_var(res.pca)
head(var$coord)

fviz_contrib(res.pca, choice = "var", axes = 1)
fviz_contrib(res.pca, choice = "var", axes = 2)

p<-fviz_pca_biplot(res.pca, title = "",labelsize = 5,
                  addEllipses = TRUE,
                  habillage=as.factor(donA$Amb),
                  palette = c("#1C1C1C", "red"),
                  mean.point = FALSE,
                  xlab = "Comp_1(51.74)", ylab = "Comp_2(17.07)")

p<-p+theme
p
ggsave(plot = p,filename = "pca_todos.tif", device = "tiff",dpi = 300, scale = 3 )
```

Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.

APÊNDICE B – Coeficiente de correlação de Pearson para os caracteres número de grãos por planta no controle (NGP-C) e no frio (NGP-F), número de grãos por legume no controle (NGL-C) e no frio (NGL-F), massa de grãos por planta no controle (MGP-C), número de legumes por planta no frio (NLP-F), número de grãos falhos por legume no frio (NGFL-F), massa de 100 grãos no controle (MCG-C), índice de enchimento de grãos (GFI), índice de suscetibilidade a baixas temperaturas (LTSI), taxa de redução de rendimento (YRR), índice de estabilidade de rendimento (YSI), atividade da peroxidase no controle (POD-C), atividade da superóxido dismutase no controle (SOD-C) e no frio (SOD-F) e índice de tolerância a baixas temperaturas (LTTI) de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas a duas condições térmicas, controle e frio. UTFPR, Pato Branco, 2021.

Variáveis	Coeficiente de correlação de Pearson	Nível de significância
NGP-C x SOD-C	0.8584	*
NGP-C x SOD-F	0.8853	*
NGL-C x SOD-C	0.8624	*
NGL-C x SOD-F	0.8942	*
MGP-C x GFI	-0.8709	*
MGP-C x LTSI	0.8177	*
MGP-C x YRR	0.8178	*
MGP-C x YSI	-0.8132	*
NLP-F x LTTI	0.85	*
NGFL-F x LTTI	-0.8847	**
NGP-F x LTSI	-0.8307	*
NGP-F x LTTI	0.8235	*
NGP-F x YRR	-0.83	*
NGP-F x YSI	0.8349	*
NGL-F x POD-C	-0.9089	*
NGL-F x SOD-C	-0.8871	*
NGL-F x SOD-F	-0.918	*
MCG-C x SOD-C	-0.8951	*
GFI x LTSI	-0.9482	**
GFI x YRR	-0.9486	**
GFI x YSI	0.9468	**
GFI x SOD-C	-0.82	*
GFI x SOD-F	-0.9783	**
LTSI x SOD-F	0.9039	*
YRR x SOD-F	0.9044	*
YSI x SOD-F	-0.9042	*
POD-C x SOD-C	0.8208	*
SOD-C x SOD-F	0.9127	*

** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade de erro, respectivamente. Fonte: GOBATTO, D. R., 2021.