



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO AGRONÔMICA E VALIDAÇÃO DE GENES  
CANDIDATOS A MARCADORES MOLECULARES PARA  
TOLERÂNCIA À SECA EM GRÃO-DE-BICO**

**AMANDA MARQUES MEDRADO ARAUJO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA- DF**

**FEVEREIRO/2023**

**LOMBADA**

**A. M. M ARAUJO – MESTRE - 2023**

**Nº**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO AGRONÔMICA E VALIDAÇÃO DE GENES  
CANDIDATOS A MARCADORES MOLECULARES PARA  
TOLERÂNCIA À SECA EM GRÃO-DE-BICO**

**AMANDA MARQUES MEDRADO ARAUJO**

**ORIENTADOR: WARLEY MARCOS NASCIMENTO**

**COORIENTADOR: LEONARDO SILVA BOITEUX**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA**

**PUBLICAÇÃO: N°/2023**

**BRASÍLIA - DF**  
**FEVEREIRO/2023**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO AGRONÔMICA E VALIDAÇÃO DE GENES  
CANDIDATOS A MARCADORES MOLECULARES PARA  
TOLERÂNCIA À SECA EM GRÃO-DE-BICO**

**AMANDA MARQUES MEDRADO ARAUJO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA**

**APROVADA POR:**

---

Warley Marcos Nascimento, Ph.D., Embrapa Hortaliças, [Warley.nascimento@embrapa.br](mailto:Warley.nascimento@embrapa.br)  
/Orientador

---

Michelle Souza Vilela, D.S.c., Universidade de Brasília, [michellevilelaunb@gmail.com](mailto:michellevilelaunb@gmail.com)  
/ Examinadora interna

---

Patrícia Pereira da Silva, D.S.c., Associação Nacional dos Produtores de Alho – ANAPA, [patybio55@yahoo.com.br](mailto:patybio55@yahoo.com.br) / Examinadora externa

**BRASÍLIA- DF**  
**FEVEREIRO/2023**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Araujo, Amanda Marques Medrado.

Avaliação agronômica e validação de genes candidatos a marcadores moleculares para tolerância à seca em grão-de-bico. / Amanda Araujo; orientação de Warley Marcos Nascimento, coorientação de Leonardo Silva Boiteux. – Brasília, 2023.

97 p. : il

Dissertação de mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2023

1. Avaliação agronômica. 2. Marcadores Moleculares. 3. Tolerância à seca. 4. Grão-de-bico  
I. Nascimento, W. II. Doutor

CDD OU CDU

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARAUJO, A. M. M. **Avaliação agronômica e validação de genes candidatos a marcadores moleculares para tolerância à seca em grão-de-bico.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2023, 97 p. Dissertação de Mestrado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Amanda Marques Medrado Araujo

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação agronômica e validação de genes candidatos a marcadores moleculares para tolerância à seca em grão-de-bico

GRAU: Mestre ANO: 2023

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte

---

Nome: Amanda Marques Medrado Araujo

CPF: 058.064.471-54

Endereço: QR 315 Conjunto 09 Lote 04 Samambaia Sul - DF

Telefone: (62) 998574728

e-mail: amandamedrado.engagro@gmail.com

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe Agenizelly Marques por todo amor carinho e dedicação.

Aos meus irmãos Romulo Medrado e Ivana Marques por acreditarem em mim, pelo ombro amigo e apoio.

Ao meu namorado João Gilberto por toda paciência e companheirismo nesta etapa.

À universidade de Brasília pela oportunidade de acesso ao conhecimento e o convívio com pessoas inspiradoras.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade de Brasília.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador, Dr. Warley Marcos Nascimento, por toda paciência, compreensão e conselhos.

Ao meu coorientador, Dr. Leonardo Silva Boiteux e a Dra Maria Esther Boiteux por toda orientação durante este trabalho e por todas as palavras de incentivo.

Ao Dr. Marcos Braga e toda equipe de funcionários da Embrapa Hortaliças.

Aos amigos incríveis que encontrei ao longo desta trajetória acadêmica.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

## RESUMO GERAL

No Brasil, esforços de pesquisa estão sendo conduzidos para tentar transformar o grão-de-bico em opção comercial viável para atender tanto o mercado interno quanto o mercado exterior. Esses esforços envolvem a seleção e desenvolvimento de cultivares adaptadas as condições brasileiras para plantio durante o inverno com suplementação de irrigação. Uma alternativa de interesse seria utilizar o grão-de-bico no sistema de “safrinha” e em plantios de sequeiro. No entanto, somente o desenvolvimento de cultivares com níveis elevados de tolerância ao déficit hídrico viabilizaria o cultivo do grão-de-bico no sistema “safrinha”. As estimativas dos níveis de tolerância ao estresse hídrico demandam análises de múltiplos parâmetros morfoagronômicos, especialmente em condições de campo. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar uma coleção de diferentes acessos grão-de-bico em relação a aspectos relacionados ao rendimento sob condições impostas de déficit hídrico. O experimento à campo foi conduzido na área experimental da Embrapa Hortaliças – Distrito Federal, no período de março de 2022 a agosto de 2022. Após as avaliações, os acessos de grão-de-bico foram agrupados de acordo com diferentes classes fenotípicas, incluindo tolerância e intolerância ao déficit hídrico, bem como arquitetura da planta expressa pela presença de acessos com estruturas foliares eretas, semieretas ou prostradas. Apesar de amplamente utilizada, a triagem de materiais genéticos para tolerância à seca baseada exclusivamente no fenótipo não permite a precisão necessária na seleção devido à plasticidade fenotípica inerente às plantas. Atualmente, marcadores moleculares geneticamente associados a características de interesse são essenciais para aumentar a precisão da seleção de plantas superiores em programas de melhoramento. No grão-de-bico, o desenvolvimento de marcadores moleculares de DNA foi favorecido pela disponibilização de três genomas completos de *Cicer arietinum* no “Pulse Crop database”. Nesse contexto, o objetivo da análise laboratorial do presente trabalho foi amplificar via PCR e identificar polimorfismos em genes candidatos previamente descritos em associação com tolerância à seca no genoma de seis acessos contrastantes de grão-de-bico avaliados e classificados no experimento à campo. Polimorfismos em um ou mais dos seis acessos contrastantes de grão-de-bico foram observados em onze regiões genômicas: SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum* gene *Erecta*; *Cicer arietinum Erecta* Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy e o gene *Tiller angle control* (TAC). Polimorfismos exclusivos foram detectados para diferentes acessos e diferentes classes fenotípicas, podendo ser explorados como marcadores moleculares em populações segregantes para validar a correlação com fenótipo de arquitetura vegetal e tolerância à seca.

**Palavras-chave:** grão-de-bico, parâmetros morfoagronômicos, tolerância à seca, déficit hídrico, marcadores moleculares

## GENERAL ABSTRACT

In Brazil, research efforts are being conducted to try to convert chickpeas into a viable commercial option for both the domestic and foreign markets. These efforts involve the selection and development of cultivars adapted to Brazilian conditions for planting during winter with irrigation supplementation. An alternative of interest would be to use chickpeas in the “safrinha” system and in rain-fed plantings. However, only the development of cultivars with high levels of tolerance to water deficit would make the cultivation of chickpea in the “safrinha” system feasible. Estimates of the tolerance levels to water stress require analyses of multiple morphoagronomic parameters, especially under field conditions. In this context, the present work aimed to evaluate a collection of different chickpea accessions regarding yield-related aspects under imposed water deficit conditions. The field experiment was conducted in the experimental area of Embrapa Vegetable Crops – Distrito Federal, in the period from March 2022 to August 2022. After the evaluations, the chickpea accessions were grouped according to different phenotypic classes, including tolerance and intolerance to water deficit, as well as plant architecture expressed by the presence of erect, semi-erect or prostrate foliage. Although widely used, screening genetic materials for drought tolerance based solely on phenotype does not allow the necessary precision in selection due to the phenotypic plasticity inherent in plants. Currently, molecular markers genetically associated with traits of interest are essential to increase the accuracy of selection of superior plants in breeding programs. In chickpea, the development of DNA molecular markers was greatly favored after the availability of three complete genomes of *Cicer arietinum* in the “Pulse Crop database”. In this context, the objective of the laboratory analysis of the present work was to amplify via PCR and identify polymorphisms in candidate genes previously described in association with drought tolerance in the genome of six contrasting chickpea accessions evaluated and classified in the field experiment. Polymorphisms in one or more of the six contrasting chickpea accessions were observed in eleven genomic regions *viz.* SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum* gene Erecta; *Cicer arietinum* Erecta Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy and the *Tiller angle control* (TAC) gene. Unique polymorphisms were detected for different accessions and different phenotypic classes and can be exploited as molecular markers in segregating populations to validate the correlation with the traits of plant architecture and drought tolerance.

**Keywords:** chickpea, morphoagronomic parameters, drought tolerance, water deficit, molecular markers.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2 OBJETIVOS .....	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
4.1 Grão-de-bico.....	12
4.2 Déficit hídrico.....	14
4.3 Resposta das plantas ao déficit hídrico.....	15
4.4 Mecanismos de defesa ao estresse hídrico em plantas .....	16
4.5 Mecanismos fisiológicos e bioquímicos.....	16
4.6 Mecanismos moleculares .....	18
4.7 Abordagem molecular para o desenvolvimento de plantas tolerantes .....	20
4.8 Melhoramento para tolerância ao déficit hídrico em grão-de-bico .....	21
5 REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DE COMPONENTES MORFOAGRONÔMICOS E DE RENDIMENTO EM ACESSOS DE GRÃO-DE-BICO ( <i>Cicer arietinum L.</i> ) SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO .....	28
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1 INTRODUÇÃO .....	31
2 MATERIAIS & MÉTODOS .....	33
2.1 Localização do experimento.....	33
2.2 Materiais utilizados .....	33
2.3 Implantação e condução .....	34
2.4 Avaliações experimentais.....	36
2.5 Análise de dados.....	37
3 RESULTADOS & DISCUSSÃO .....	38
Tabela 8 – Classificação dos tratamentos quanto a tolerância e suscetibilidade à seca.....	57
4 CONCLUSÕES .....	58
5 REFERÊNCIAS.....	59
CAPÍTULO II – VALIDAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES DERIVADOS DE GENES CANDIDATOS EM ACESSOS DE GRÃO-DE-BICO CONTRASTANTES PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO .....	62
RESUMO.....	63
ABSTRACT.....	64

1 INTRODUÇÃO .....	65
2 MATERIAL & MÉTODOS.....	68
2.1 Acessos de grão-de-bico.....	68
2.2 Extração de DNA genômico de acessos de grão-de-bico.....	68
2.3 Desenho de primers para doze regiões genômicas englobando genes candidatos para tolerância a seca.....	69
2.4 Amplificação via PCR de segmentos de genes candidatos para tolerância a seca.....	69
2.5 Análise dos perfis de amplicons em géis de agarose.....	69
2.6 Sequenciamento dos amplicons via Sanger.....	70
2.7 Análise das sequências .....	70
3 RESULTADOS & DISCUSSÃO .....	72
4 CONCLUSÕES .....	91
5 REFERÊNCIAS.....	92

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A vulnerabilidade das plantas frente às mudanças climáticas é um problema que representa uma enorme ameaça a produção mundial de alimentos. Ao longo do ciclo produtivo, as plantas podem sofrer diferentes tipos de estresses, como salino, altas temperaturas, deficiências ou excessos de nutrientes, entre outros. Entretanto, o estresse por seca representa isoladamente o maior potencial de danos às plantas. A seca é um fenômeno caracterizado pela interação entre a redução da precipitação e a diminuição do lençol freático associado ao aumento de temperaturas (SANTINI, 2022). O aquecimento global tem sido responsável por afetar diretamente as temperaturas e precipitações mundiais, evidenciando o potencial de agravamento das severidades das secas nos próximos anos. Adaptar as plantas cultivadas aos novos desafios climáticos, é de extrema importância para assegurar a produção de alimentos do futuro (CAMPOS; SANTOS; NACARATH, 2021).

O grão-de-bico é uma leguminosa rica em proteínas, apresentando grande produção em países em desenvolvimento. Caracteriza-se como a segunda leguminosa mais consumida no mundo, ficando atrás apenas da soja (NASCIMENTO et al., 2016). A Índia é o maior produtor e consumidor mundial de grão-de-bico, porém, apesar do destaque em produção, o país não é considerado autossuficiente, necessitando de importações para atender a necessidade do mercado (ICRISAT, 2019). No Brasil, a produção de grão-de-bico ainda é insuficiente para atender a demanda nacional (AVELAR et al., 2018). Entretanto, a produção de grão-de-bico tem aumentado no país, e o Cerrado brasileiro tem se mostrado de extrema importância no cenário de expansão do cultivo, visto que as produtividades da cultura apresentadas neste bioma, estão acima das produtividades mundiais (QUEIROGA, 2021).

O cultivo grão-de bico no Brasil é realizado em plantio sequeiro, ou seja, a semeadura é realizada logo após o período chuvoso, sendo a umidade do solo a principal fonte de água disponível para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Neste sistema de plantio, se a ocorrência de chuvas for insuficiente para manter o nível adequado de umidade do solo, a planta passará por estresse hídrico ao longo do seu desenvolvimento. O estresse hídrico quando afeta o cultivo de grão-de-bico no estágio de florescimento e enchimento de grãos, promove perdas significativas na produtividade podendo variar entre 40 e 50% da produção (VARSHNEY et al., 2014). Apesar do grão-de-bico ser considerado uma cultura tolerante à seca, é preciso, por meio do melhoramento genético, aumentar os níveis de tolerância da planta, para sustentar a

produtividade sob condição déficit hídrico e fortalecer a cultura como opção de diversificação de cultivo no Brasil (QUEIROGA, 2021).

A seleção de genótipos grão-de-bico baseados na triagem de características morfoagronômicas, vem sendo adotada pelos programas de melhoramento da cultura, selecionando plantas que apresentam melhor desenvolvimento e produtividade em condições de déficit hídrico. Porém, a seleção de plantas baseadas apenas no fenótipo, é um processo oneroso e que pode ser aperfeiçoado com o uso de marcadores moleculares (NADEEM et al., 2018). A adoção de marcadores no processo de melhoramento otimiza o tempo e a eficiência de seleção de plantas tolerantes ao estresse hídrico, visto que um marcador molecular é detectável em qualquer estágio de desenvolvimento da planta.

Em condição de estresse, as plantas desenvolvem mecanismos de sobrevivência que podem ser de ordem morfológica, fisiológica, bioquímica e molecular (OSAKABE et al., 2014). Através da elucidação dos mecanismos moleculares, é possível identificar marcadores ligados ao DNA associados a característica de tolerância da planta ao estresse. Os marcadores moleculares representam um gene ou uma sequência de DNA com localização cromossômica conhecida que controla (ou se encontra associada) com uma determinada característica fenotípica (NADEEM et al., 2018).

O grão-de-bico apresenta uma enorme variabilidade genética para tolerância à seca, o que permite a utilização de genes em programas de melhoramento a fim de melhorar a adaptabilidade da cultura (JING et al., 2010). Neste contexto, o desenvolvimento de cultivares de grão-de-bico adaptadas às novas condições ambientais se faz necessário, direcionado para tal estudos sobre os mecanismos genéticos envolvidos nas respostas de tolerância ao déficit hídrico e/ou que apresentem maior eficiência no uso da água.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Caracterizar uma coleção de acessos e cultivares de grão-de-bico, quanto a tolerância e intolerância ao estresse hídrico, através da avaliação de características morfoagronômicas e aspectos relacionados ao rendimento, sob condição de déficit hídrico. Posteriormente, submeter um subconjunto de materiais genéticos contrastantes (classificados como tolerantes e suscetíveis) a validação de marcadores moleculares derivados de genes candidatos a tolerância à seca na cultura.

### **2.2 Objetivos específicos**

- I. Avaliar características morfoagronômicas e aspectos relacionados ao rendimento de diferentes genótipos e cultivares comerciais de grão-de-bico sob condição de déficit hídrico
- II. Validar marcadores moleculares para a tolerância á déficit hídrico

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Grão-de-bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa originária da região sudeste da Turquia, pertencente à família Fabaceae (IBPGR, 1985). Caracteriza-se como uma planta herbácea, de ciclo anual, que apresenta melhor desempenho de produção em condições subtropicais e temperadas, sendo, entretanto, adaptada a uma ampla variabilidade climática e estando atualmente presente em mais de 56 países (QUEIROGA, 2021). A cultura possui grande importância econômica por se tratar da segunda leguminosa mais consumida no mundo, atrás apenas da soja (NASCIMENTO et al., 2016; VIEIRA, 2001). A Índia é o maior produtor e consumidor mundial de grão-de-bico, porém, apesar do destaque em produção, o país não é considerado autossuficiente pois necessita de importações para atender a necessidade do mercado seu mercado interno (ICRISAT, 2019).

O grão-de-bico é uma planta autógama, diploide ( $2n = 2x = 16$ ), apresentando variação no tempo para a floração, podendo ocorrer de 24 a 80 dias após a semeadura a depender do genótipo (QUEIROGA, 2021; SAJJA; SAMINENI; GAUR, 2017). As cores das flores podem ser utilizadas para diferenciar os tipos de grão-de-bico e são normalmente de cor púrpura ou branca. Geralmente as vagens começam a aparecer seis dias após a fertilização, e demoram cerca de quatro semanas para completar o ciclo de produção da semente, apresentando uma ou duas sementes por vagem (AUCKLAND; VAN DER MAESEN, 1981). As sementes podem apresentar formato angular, cilíndrico ou arredondado com a superfície enrugada ou lisa e o peso de 100 sementes pode variar de 8 a 75 gramas (NASCIMENTO et al., 2016).

São cultivados dois principais grupos distintos de grão-de-bico, os tipos “Desi” e “Kabuli”. As cultivares do tipo “Desi” correspondem a cerca de 85% da produção da cultura e são caracterizados por possuir sementes coloridas com tonalidades e combinações de marrom, amarelo, verde e preto (AUCKLAND; VAN DER MAESEN, 1981). Além disso, apresentam sementes pequenas e angulares com superfície rugosa protegidas por um espesso tegumento, as flores são normalmente de cor púrpura, além disso, as plantas apresentam presença de pigmento antocianina nas hastes (QUEIROGA, 2021; SAJJA; SAMINENI; GAUR, 2017). Os de tipo “Kabuli” apresentam sementes grandes, de cor brancas ou beges com tegumento fino e liso e formato de cabeça de carneiro (IBPGR, 1985). As flores são brancas e as plantas apresentam ausência de pigmentos do grupo das antocianinas.

Distintas características da planta de grão-de-bico que podem condicionar melhor adaptação as condições de déficit hídrico. Dependendo do ângulo de inserção dos ramos e a projeção do solo, a planta pode assumir o hábito de crescimento ereto, semi-inclinado, inclinado ou prostrado (NASCIMENTO et al., 2016). A arquitetura da planta é uma característica agrônômica afetando substancialmente o rendimento de grãos, principalmente devido à sua grande influência na densidade da planta (WANG et al. 2022). Essa família de genes também pode apresentar um efeito indireto no rendimento das plantas sob estresse hídrico uma vez que o posicionamento ereto da folhagem reduz consideravelmente a incidência direta dos raios solares nos limbos foliares (GONZALES-ARCOS et al., 2019). Essa angulação foliar reduz, desta forma, os efeitos oxidativos negativos sobre a fotossíntese das plantas, especialmente nas horas mais quentes do dia quando o sol se encontra no chamado “zenith angel” (BRAGHIERE et al. 2020). Como mecanismo de controle de evapotranspiração e de defesa contra pragas, a planta apresenta pelos glandulares e não glandulares, em toda sua extensão, exceto nas pétalas das flores (SAJJA; SAMINENI; GAUR, 2017). Os pelos glandulares secretam uma substância ácida contendo uma mescla de ácidos oxálico, málico e cítrico. As folhas podem ser simples ou compostas, contendo de 6 a 7 pares de folíolos opostos ou alternados com formato oval ou elíptico e com margens serrilhadas. O grão-de-bico possui um sistema radicular robusto, composto por uma raiz principal (que pode chegar a 3 metros de profundidade) e várias raízes secundárias. A profundidade atingida pelas raízes favorece a sobrevivência da planta em condições de déficit hídrico (SHARMA et al., 2013).

Além da importância econômica, o grão-de-bico possui grande importância nutricional, apresentando de 25,3 a 28,9% de proteína, além de aminoácidos essenciais, cálcio, fósforo, ferro e vitaminas (SAJJA; SAMINENI; GAUR, 2017). A produção de grão-de-bico no Brasil, ainda é pequena e insuficiente para atender o mercado nacional, necessitando importar produto do México e da Argentina (AVELAR et al., 2018). A demanda pelo consumo desta leguminosa no país tem aumentado, em substituição a proteína da soja, na medida que aumenta o número de consumidores adeptos a estilos de vida mais saudáveis e naturais. Além do consumo “*in natura*”, o grão-de-bico apresenta grande versatilidade de usos, podendo ser empregado na fabricação de hambúrgueres, na produção de cervejas, como farinha na fabricação de pães, entre outros (NASCIMENTO et al., 2016).

De acordo Nascimento et al., (2016) no Brasil, o grão-de-bico tem se mostrado como uma excelente opção de cultivo de segunda safra verão (“safrinha”). Grande parte da produção de grão-de-bico no país encontra-se na região sul, devido ao clima ameno. Porém, cultivares

adaptadas as condições do “Cerrado” vem sendo desenvolvidas e algumas apresentam produtividade acima das médias mundiais (QUEIROGA, 2021). Sendo assim, o grão-de-bico possui grande potencial de em pouco tempo se tornar uma nova opção de cultivo para o cerrado brasileiro (QUEIROGA, 2021). O aumento da produção da cultura no país deve visar atender não somente a demanda nacional, como também a internacional, pois o grão-de-bico é um importante produto de exportação, já que como mencionado, a Índia necessita importar grão-de-bico de outros países para atender a demanda de consumo da população.

## 4.2 Déficit hídrico

Estresse abiótico é definido como qualquer influência do ambiente sob o desenvolvimento das plantas que não a permitam expressar inteiramente o seu potencial genético (BORÉM; RAMALHO, 2022). Ao longo do ciclo de produção, as plantas podem passar por diversos estresses abióticos como o hídrico (seca), salino e altas temperaturas e estresses por deficiências ou excessos de nutrientes (nitrogênio, fósforo, alumínio, além de metais pesados). Dentre estes, o estresse hídrico é o que apresenta maior potencial de danos às produções agrícolas, pois a água está envolvida em diversos processos fisiológicos fundamentais à sobrevivência, desenvolvimento e perpetuação das plantas (TAIZ et al., 2017). Sendo assim, a ausência dessa substância simples desencadeia uma série de desordens que afetam desde processos fisiológicos como a fotossíntese até a produtividade dos cultivos.

Atualmente observa-se variações climáticas rigorosas ocorrendo no Brasil e no mundo. Nunca antes tinha sido observado tantas ocorrências de mudanças nos períodos climáticos no ano, nem tanta severidade de chuvas, secas prolongadas, geadas inesperadas e calor intenso. O relatório IPCC (“*The Intergovernmental Panel on Climate Change*”) intitulado “*Climate Change and Land*” divulgado pela ONU, trata sobre as mudanças no clima em todo o mundo e, nos traz o alerta de que alterações nas temperaturas globais influenciam diretamente a mudança na sazonalidade das chuvas, a disponibilidade de água doce e coloca em risco a biodiversidade microbiana, vegetal e animal. Além disso, as ocorrências de períodos de secas prolongadas são responsáveis por acarretar grandes prejuízos às produções agrícolas (CAMPOS; SANTOS; NACARATH, 2021).

De acordo Santini et al., (2022), a seca está diretamente relacionada aos impactos na produtividade de culturas em escala global. Compreender tais danos torna-se uma questão de segurança alimentar, visto que tem se observado um aumento da ocorrência de secas em todo o

mundo. O déficit hídrico tem sido responsável por influenciar a produção de diferentes cultivos como os de feijão-caupi (NASCIMENTO et al., 2011), algodão (DE ALMEIDA et al., 2017), milho (SILVA et al., 2021), sorgo e trigo (SANTINI et al., 2022), grão-de-bico (PANG et al., 2017), soja (GAVA et al., 2015), entre outras culturas.

É de fundamental importância o desenvolvimento de plantas adaptadas às novas condições ambientais a fim de minimizar os prejuízos à produção agrícola. Diante do aumento da ocorrência de oscilações climáticas, e a ocorrência de maiores períodos de estiagem, diversos institutos de pesquisas têm surgido e outros têm direcionado suas linhas de pesquisas a compreensão dos mecanismos envolvidos na resposta de defesa vegetal, bem como ao desenvolvimento de plantas tolerantes ao déficit hídrico e/ou que apresentem maior eficiência no uso da água.

### 4.3 Resposta das plantas ao déficit hídrico

A percepção pela planta de um estresse desencadeia uma cascata de respostas. As plantas possuem a capacidade de se adequar a diferentes condições ambientais por meio de adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas, além de mecanismos moleculares (OSAKABE et al., 2014). Fatores como severidade, frequência e duração do estresse influenciam a resposta da planta e o nível de danos causados, independente do estresse imposto. Entretanto, se tratando do estresse por déficit hídrico, a severidade dos danos também estão relacionados a fatores como a estrutura do solo e capacidade de retenção de água, taxa de evapotranspiração da cultura, precipitação média e nível de suscetibilidade do genótipo (WERY et al., 1994).

Na literatura existe uma confusão que leva a associação entre os termos tolerância e eficiência no uso dos recursos. Entretanto, ambos tratam de definições distintas e que possuem fundamental importância no desenvolvimento de cultivares quando se trata de déficit hídrico. A **tolerância** se refere a capacidade da planta em sobreviver a condições não favoráveis ao seu desenvolvimento, e ainda assim deixar descendentes. Já a **eficiência** no uso dos recursos, trata da relação entre produtividade por unidade de recurso disponível à planta (PATERNIANI; GUIMARÃES; BERNINI, 2022). Diante disso, é notadamente mais efetivo para um programa de melhoramento, trabalhar no desenvolvimento de plantas eficientes no uso da água do que com a tolerância propriamente dita.

Ou seja, plantas eficientes no uso da água, podem proporcionar menores prejuízos à produção em condições de déficit hídrico, pois conseguem aproveitar de forma plena e eficaz, cada m<sup>3</sup> de água disponível no solo, expressando seu máximo em produtividade por unidade de recurso (PATERNIANI; GUIMARÃES; BERNINI, 2022). E quando em condições de fornecimento da demanda hídrica ideal (= **conforto hídrico**), a mesma planta é capaz de expressar incrementos em seu potencial produtivo, conhecido como plasticidade fenotípica (PIGLIUCCI; MURREN; SCHLICHTING, 2006). Já plantas tolerantes, em condição de estresse severo, apresentam diminuição da produtividade pois, concentram sua energia na sobrevivência e perpetuação da espécie (FRITSCHÉ-NETO; CAVATTE; DO VALE, 2022). Portanto, para o produtor, existe uma maior vantagem na adoção de cultivares que sejam eficientes no uso da água.

A compreensão sobre os mecanismos e reações das plantas sob condições de déficit hídrico é de extrema importância para o desenvolvimento de cultivares tolerantes e/ou eficientes no uso da água. Apesar dos avanços em conhecimentos sobre este estresse, as informações ainda são incipientes, havendo a necessidade de mais estudos principalmente, no que tange a regulação gênica envolvida na resposta de defesa.

#### **4.4 Mecanismos de defesa ao estresse hídrico em plantas**

Diante da percepção do início do estresse hídrico, a planta busca alternativas de sobrevivência conhecidas como escape, retardo e tolerância (ABOBATTA, 2019). No **escape**, há uma antecipação do ciclo de vida pelas plantas, para evitar o período de estresse mais severo, onde há maior comprometimento de funções fisiológicas. Sendo assim, reduzem o período vegetativo, e produzem flores mais precocemente, a fim de deixar descendentes (TAIZ et al., 2017). No **retardo**, as plantas buscam manter um equilíbrio hídrico favorável ao seu desenvolvimento, retendo água em seus tecidos, sendo que esta retenção se dá tanto pelo aumento da absorção de água por raízes mais profundas e eficientes, quanto pelo fechamento estomático reduzindo a perda por transpiração (TAIZ et al., 2017). E por último, a **tolerância** permite a planta suportar o baixo teor de água nos tecidos, mantendo seu metabolismo através de alternativas como a acumulação de solutos, modificação das paredes celulares, proteínas, entre outros mecanismos protetores (ASATI et al., 2022).

#### **4.5 Mecanismos fisiológicos e bioquímicos**

Segundo Dos Santos; Felicio; Domingues (2022), para que exista a expressão morfológica de uma resposta de defesa, a planta ativa respostas fisiológicas, como: a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), regulação hormonal, ajuste osmótico, fechamento estomático, inibição fotossintética, abscisão foliar, desestabilização de membranas e proteínas, redução de atividades celulares e metabólicas, abscisão foliar, morte celular, entre outros.

As espécies reativas a oxigênio (EROs), fazem parte da defesa antioxidante da planta e atuam como mensageiros na ativação de outros mecanismos de defesa, pois possuem grande capacidade de reagir com diversos constituintes celulares, e oxidá-los (NADEEM et al., 2019; TAIZ et al., 2017). As formas mais comuns encontradas nas células sob estresse hídrico, são como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ), ânion superóxido ( $O_2^\cdot$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (TAIZ et al., 2017). A produção e acumulação EROs são responsáveis por danificar macromoléculas e a estrutura celular (TAIZ et al., 2017). Dentre as formas encontradas, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é uma forma moderadamente reativa que se difunde facilmente entre as membranas, sendo considerado como importante nas vias de sinalização intracelular. O  $H_2O_2$  induz processos como fechamento estomático, expressão de genes de resposta a estresse ambiental, controle do ciclo celular, entre outros (KUMAR SINGH et al., 2019). A eliminação de EROs é realizada por compostos antioxidantes como glutathione reduzida (GSH), ascorbato (AsA), vitaminas e pigmentos carotenoides, em conjunto com a ação de enzimas antioxidantes como, superoxidase dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e catalase (CAT) que são responsáveis pela conversão da forma tóxica, para a não tóxica nos tecidos da planta (DOS SANTOS; FELICIO; DOMINGUES, 2022). De acordo com Saglam et al., (2011), cultivares resistentes de feijão comum e capim cavalo apresentaram aumento nas atividades de SOD, APX, GR sob déficit hídrico. O aumento da atividade antioxidantes em leguminosas ajuda na tolerância à seca, protegendo do estresse oxidativo (NADEEM et al., 2019).

Os fitohormônios como giberelinas, citocininas, auxinas, ABA e etileno estão envolvidos na tolerância à seca e fazem parte da regulação hormonal vegetal (NADEEM et al., 2019). Sob déficit hídrico, a concentração de hormônios como giberelinas, citocininas e auxina diminui enquanto etileno e ABA tendem a aumentar. A superexpressão de genes induzidos pelo ABA pode ser uma alternativa para melhorar a tolerância ao déficit hídrico em plantas (ESTRADA-MELO et al., 2015; VERMA et al., 2019). O ácido jasmônico também está

relacionado com a tolerância à seca por estar envolvido em processos como fechamento estomático, eliminação de EROs e desenvolvimento de raízes (ULLAH et al., 2018)

Em condição de estresse hídrico, a célula vegetal pode reduzir seu potencial osmótico através de um processo conhecido como ajuste osmótico, considerado o principal mecanismo adaptativo de tolerância à seca em plantas (KUMAR SINGH et al., 2019; OZTURK et al., 2021). Neste processo, há a preservação do turgor celular através da acumulação de solutos (TAIZ et al., 2017). Estes solutos são compostos de hidroxila como oligossacarídeos, polióis e sacarose ou compostos contendo nitrogênio como aminoácidos e proteínas, poliaminas e compostos amino (BLUM, 2017). À medida que o potencial hídrico da planta diminui, o acúmulo de solutos se intensifica.

Outra resposta de defesa da planta sob condição de déficit hídrico é a regulação estomática. Segundo Le et al., (2011), na evolução vegetal, o desenvolvimento estomático é um dos marcos mais importantes pois, os estômatos funcionam como portas de entradas controladas pelas plantas, que permitem a transpiração e a absorção de CO<sub>2</sub> atmosférico, importantes em processos como a fotossíntese, resfriamento celular e absorção de nutrientes. A regulação estomática é considerada a resposta mais rápida e importante de defesa vegetal em situação de seca, para evitar a queda do potencial hídrico do xilema a níveis impossíveis de serem suportados pelas plantas (TOMBESI et al., 2015). Com o fechamento estomático, há também a diminuição na assimilação de CO<sub>2</sub> pela planta, acarretando prejuízo a diversos processos fisiológicos que demandam essa absorção. Sendo assim, o fechamento estomático é realizado em condições em que os benefícios da retenção de água sejam maiores que os efeitos negativos provocados por ela (AGURLA et al., 2018). O hormônio de estresse ABA é conhecido por sua importância para plantas sob déficit hídrico pois, induz o fechamento estomático. Em condição de estresse, a síntese de ABA é intensificada nos tecidos vasculares das folhas e posteriormente o hormônio é transportado para as células guardas, ocasionando a perda de turgor e desencadeando o fechamento estomático (PIRASTEH-ANOSHEH et al., 2016). Em decorrência da redução da difusão de CO<sub>2</sub> o funcionamento da enzima ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) é comprometido influenciando diretamente todo o aparato fotossintético acarretando na diminuição da eficiência da fotossíntese (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009).

#### **4.6 Mecanismos moleculares**

O déficit hídrico desencadeia uma série de respostas a nível molecular para modular a quantidade de água presente no solo com a requerida pela cultura (TAIZ et al., 2017). Diante da condição de estresse, vários genes de resposta à seca têm sua transcrição regulada negativamente ou positivamente por meio de uma complexa rede de transcrito. Segundo Bauer et al., (2013), a planta submetida a condições de escassez hídrica, apresenta a expressão de genes de tolerância relacionados ao acúmulo de osmólitos, redução da taxa de transpiração, aumento da ação de enzimas antioxidantes, entre outros.

A tecnologia baseada nas ciências “ômicas” tem sido usada para descobrir genes responsáveis por características desejadas e sua função específica (NADEEM et al., 2019). O desenvolvimento da biotecnologia possibilitou o avanço no desenvolvimento de cultivares tolerantes a diversos estresses abióticos, incluindo o déficit hídrico, com o uso de abordagens moleculares que incluem a genômica, transcritômica, proteômica e metabolômica, auxiliando o mapeamento de regiões no genoma responsáveis por determinadas características fenotípicas, conhecidos como, QTLs (BASHIR et al., 2021). Elucidar as funções de genes, proteínas e metabólitos envolvidos na sensibilidade e tolerância de leguminosas à seca é de fundamental importância para o desenvolvimento de plantas tolerantes ao déficit hídrico.

A complexa rede regulatória envolvida na tolerância a déficit hídrico em plantas, ainda não é bem definida, entretanto, os estudos já existentes apontam que a resposta molecular para este estresse ocorre a partir da percepção do estímulo do estresse pela planta através de diferentes sensores presentes na membrana das células (BASHIR et al., 2021). A tradução do sinal é feita por intermédio de mensageiros secundários como íons de cálcio, óxido nítrico, açúcares, ROS, entre outros (KAUR; ASTHIR, 2017). A fosforilação e desfosforilação de proteínas envolvidas nas vias de sinalização é feita por proteínas quinases e fosfatases.

De acordo Nakashima; Yamaguchi-Shinozaki; Shinozaki, (2014), a expressão de genes de resposta ao déficit hídrico envolve proteínas envolvidas na sinalização e regulação da transcrição (como proteínas quinases, fosfatases e fatores de transcrição), proteínas funcionais que protegem as membranas celulares e outras proteínas como antioxidantes, osmotina e proteínas envolvidas no transporte de água, íons e açúcar.

Os genes responsivos à seca podem ser classificados como dependentes e independentes de ABA (KIM, 2014). De acordo Sah; Reddy; Li, (2016) Os genes expressos durante o déficit hídrico, desempenham papel crucial na expressão de enzimas responsáveis pelo funcionamento da via biossintética do ácido abscísico.

Os fatores de transcrição atuam como reguladores da transcrição gênica e da sua expressão, além disso, são conhecidos por desempenhar papel importantes nas plantas sob estresse hídrico sendo diferentes subfamílias já foram caracterizadas como envolvidas na regulação da resposta da planta em situação de estresse, como os fatores MYB, AP2/ERF, bZIP e NAC (RIECHMANN et al., 2000). As proteínas do tipo “zinc-finger”, por exemplo, são fatores de transcrição dependentes do ácido abscísico e compõem uma grande família com 75 membros anotados no genoma de *Arabidopsis* (KAUR; ASTHIR, 2017).

#### **4.7 Abordagem molecular para o desenvolvimento de plantas tolerantes**

Características fisiológicas como eficiência no uso da água (AMEDE; KITTLITZ; SCHUBERT, 1999), crescimento de raízes (RIBEIRO et al., 2019) e discriminação de isótopos ( $\Delta^{13}\text{C}$ ) de carbono e temperatura foliar (KHAN et al., 2010), podem ser utilizadas p triagem de tolerância à seca. O melhoramento genético vegetal visando a obtenção de cultivares tolerantes ao déficit hídrico, possui dificuldades que envolvem a base genética quantitativa das características de tolerância e o conhecimento das bases fisiológicas da resposta do rendimento das culturas sob estresse (PATERNIANI; GUIMARÃES; BERNINI, 2022). A baixa herdabilidade de algumas características devido as interações genótipo x ambiente, também é um fator importante a ser considerado. No processo de melhoramento genético de plantas, o uso de marcadores que auxiliam a triagem das características de interesse na progênie é de suma importância. Marcadores morfológicos e fisiológicos apresentam certa eficácia na triagem de plantas, entretanto marcadores moleculares baseados em DNA, são mais efetivos por serem estáveis, inalterados por fatores ambientais e detectáveis em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (FALEIRO, 2011).

Marcador genético caracteriza-se por um gene ou uma sequência de DNA com uma localização cromossômica conhecida que controla (ou está associada) a expressão de uma característica (NADEEM et al., 2018). Os marcadores moleculares podem ser investigados através do polimorfismo presente entre as sequências nucleotídicas de diferentes indivíduos. Um marcador de DNA ideal deve ser codominante, distribuído uniformemente por todo o genoma, altamente reprodutível e com capacidade de detectar maior nível de polimorfismo (MONDINI; NOORANI; PAGNOTTA, 2009).

De acordo FAROOQ; HUSSAIN; SIDDIQUE (2014), as características morfológicas e fisiológicas que influenciam a tolerância a seca são de herança quantitativa. Sendo assim, a

identificação de QTLs relacionados a essa tolerância é uma abordagem promissora usando a seleção assistida por marcadores (SAM). O uso de marcadores moleculares tem sido utilizado na melhoria de plantas para tolerância à seca em leguminosas (NADEEM et al., 2018).

#### **4.8 Melhoramento para tolerância ao déficit hídrico em grão-de-bico**

Os principais estresses abióticos que afetam o grão-de-bico são o frio, calor e seca, sendo o último o mais importante. Segundo Varshney et al., (2014), a seca na fase de florescimento e enchimento de grãos em grão-de-bico é extremamente prejudicial a cultura e reduz a produtividade drasticamente. Uma análise global sobre o rendimento de culturas leguminosas sob seca, destacou que entre as 13 culturas mais afetadas em produção, o grão de bico ocupa a sétima posição (DARYANTO; WANG; JACINTHE, 2015). Em estudo realizado por Pang et al., (2017), verificou-se redução de 85% do rendimento de sementes em plantas de grão-de-bico submetidas a seca terminal em estágio inicial de produção de vagem.

Uma estratégia utilizada para driblar o efeito do déficit hídrico na cultura é a seleção de genótipos que apresentem melhor desenvolvimento e produtividade em condições de escassez hídrica. Entretanto, somente a estratégia de seleção por produtividade não é suficiente para seleção de variedades tolerantes à seca (BLUM, 1996). No melhoramento do grão-de-bico, tem-se utilizado abordagens como a introdução, hibridação, indução de mutações, reprodução assistida por marcadores e técnicas “ômicas” (GAUR et al., 2019).

Segundo Li et al., (2018) o uso de mapeamento de associação permite a triagem de modificações genéticas associadas determinadas características, aumentando a eficiência da seleção. O estudo da associação genômica ampla, permite a identificação de QTL's associados a tolerância à seca e o desenvolvimento de marcadores específicos para esta característica.

A tolerância à seca é uma característica quantitativa que envolve vários genes. Em condição de estresse, a expressão de vários genes é regulada positivamente ou negativamente. A compreensão sobre quais genes estão envolvidos na resposta de tolerância da cultura é de extrema necessidade para o desenvolvimento de cultivares adaptadas as condições de déficit hídrico. Segundo Maqbool; Aslam; Ali (2017), em plantas de grão-de-bico sobre estresse hídrico, foi observado regulação positiva de genes envolvidos no metabolismo do ácido abscísico. Genes que codificam as subunidades da enzima Rubisco e proteínas de ligação da clorofila a e b também foram regulados em resposta ao estresse (MAQBOOL; ASLAM; ALI, 2017). Em estudo sobre a dissecação genética da tolerância a seca e calor em grão-de-bico foi

descoberto um total e 18 SNPs de cinco genes (ERECTA, ASR, DREB, Promotor CAP2 e AMDH), associados a diferentes características de tolerância à seca na cultura (THUDI et al., 2014). Esses genes são promissores para o desenvolvimento de marcadores moleculares de tolerância a déficit hídrico na cultura.

## 5 REFERÊNCIAS

- ABOBATTA, Waleed Fouad. Drought adaptive mechanisms of plants – a review. **Advances in Agriculture and Environmental Science: Open Access (AAEOA)**, v. 2, n. 1, p. 62–65, 2019.
- AGURLA, Srinivas *et al.* Mechanism of stomatal closure in plants exposed to drought and cold stress. *In: IWAYA-INOUE, M.; SAKURAI, M.; UEMURA, M. (org.). Advances in Experimental Medicine and Biology*. Singapore: Springer, 2018. v. 1081, p. 215–232.
- AMEDE, T.; KITTLITZ, E. V.; SCHUBERT, S. Differential drought responses of faba bean (*Vicia faba* L.) inbred lines. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 183, n. 1, p. 35–45, 1999.
- ASATI, Ruchi *et al.* Molecular Breeding and Drought Tolerance in Chickpea. **Life**, v. 12, n. 11, p. 1846, 2022.
- AUCKLAND, A K; VAN DER MAESEN, L.J.G. Chickpea. *In: FEHR, W.R.; HADLEY, H.H. (org.). Hybridization of crop plants*. Madison: American Society of Agronomy, 1981. p. 249–257.
- AVELAR, Ramon Ivo Soares *et al.* Production and quality of chickpea seeds in different sowing and harvest periods. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 2, p. 146–155, 2018.
- BASHIR, Sheikh Shanawaz *et al.* Plant drought stress tolerance: understanding its physiological, biochemical and molecular mechanisms. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 1912–1925, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13102818.2021.2020161>.
- BAUER, Hubert *et al.* The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. **Current Biology**, v. 23, n. 1, p. 53–57, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.022>.
- BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. **Plant Growth Regulation**, v. 20, n. 2, p. 135–148, 1996.
- BLUM, Abraham. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. **Plant Cell and Environment**, v. 40, n. 1, p. 4–10, 2017.
- BORÉM, Aluizio; RAMALHO, Magno Antonio Patto. O melhoramento de plantas no cenário de estresses abióticos. *In: FRITSCHÉ NETO, Roberto; BORÉM, Aluizio (org.). Melhoramento de plantas para estresses abióticos*. 2. ed. Viçosa: UFV, 2022. p. 9–30.
- BRAGHIÈRE, R. K., QUAIFFE, T., BLACK, E., RYU, Y., CHEN, Q., DE KAUWE, M. G., & BALDOCCHI, D. (2020). Influence of sun zenith angle on canopy clumping and the resulting impacts on photosynthesis. **Agricultural and Forest Meteorology** 291: 108065.
- CAMPOS, Anna Júlia de Moraes; SANTOS, Sarah Medeiros; NACARATH, Inaia Rhavene Freire Fagundes. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e311101523155, 2021.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 551–560, 2009.

DARYANTO, Stefani; WANG, Lixin; JACINTHE, Pierre André. Global synthesis of drought effects on food legume production. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1–16, 2015.

DE ALMEIDA, Érica Samara Araújo Barbosa et al. Algodoeiro herbáceo submetido a déficit hídrico: Produção. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. v.13, p. p.22-28, 2017. Disponível em: <http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/index>.

DOS SANTOS, Tiago Benedito; FELICIO, Mariane Silva; DOMINGUES, Douglas Silva. A fisiologia dos estresses abióticos I: estresse hídrico, salino e altas temperaturas. *In*: FRITSCHENETO, Roberto; BORÉM, Aluízio (org.). **Melhoramento de plantas para estresses abióticos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2022. p. 41–62.

ESTRADA-MELO, Alejandro C. et al. Overexpression of an ABA biosynthesis gene using a stress-inducible promoter enhances drought resistance in petunia. **Horticulture Research**, v. 2, n. 15013, p. 1–9, 2015.

FALEIRO, Fábio Gelape. Princípio científico e análises genéticas utilizando marcadores moleculares. *In*: FALEIRO, Fábio Gelape; DE ANDRADE, Solange Rocha Monteiro (org.). **BIOTECNOLOGIA: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 31–54.

FAROOQ, Muhammad; HUSSAIN, Mubshar; SIDDIQUE, Kadambot H.M. Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-filling Periods. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 33, n. 4, p. 331–349, 2014.

FRITSCHENETO, Roberto; CAVATTE, Paulo César; DO VALE, Júlio César. A tolerância e a eficiência como respostas ao estresse abiótico. *In*: FRITSCHENETO, Roberto; BORÉM, Aluízio (org.). **Melhoramento de plantas para estresses abióticos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2022. p. 31–40.

GAUR, Pooran M. et al. Integrated breeding approaches for improving drought and heat adaptation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Breeding**, v. 138, n. 4, p. 389–400, 2019.

GAVA, Ricardo et al. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349–359, 2015.

GONZÁLEZ-ARCOS M, FONSECA, MEN, ZANDONADI DB, PERES LE, ARRUBARRENA A, FERREIRA DS, ... & BOITEUX LS (2019) A loss-of-function allele of a TAC1-like gene (SITAC1) located on tomato chromosome 10 is a candidate for the *Erectoid leaf* (*Erl*) mutation. **Euphytica** 215: 95.

IBPGR. Chickpea descriptors. (**International Board for Plant Genetic Resources**), Roma, p. 15, 1985.

ICRISAT. INTERNATIONAL CROPS RESEARCH INSTITUTE FOR THE SEMI-ARID TROPICS. **Riding High on Chickpea's Growth**, 2019. Disponível em: <https://www.icrisat.org/riding-high-on-chickpeas-growth/>. Acesso em: 15 nov. 2022.

JING, Runchun et al. The genetic diversity and evolution of field pea (*Pisum*) studied by high throughput retrotransposon based insertion polymorphism (RBIP) marker analysis. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 1, p. 1–20, 2010.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Molecular responses to drought stress in plants. **Biologia Plantarum**, v. 61, n. 2, p. 201–209, 2017. Disponível em: [https://bp.ueb.cas.cz/artkey/bpl-201702-0001\\_Molecular-responses-to-drought-stress-in-plants.php](https://bp.ueb.cas.cz/artkey/bpl-201702-0001_Molecular-responses-to-drought-stress-in-plants.php).

- KHAN, H. R. et al. Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. **Field Crops Research**, v. 115, n. 3, p. 279–286, 2010.
- KIM, Tae Houn. Mechanism of ABA signal transduction: Agricultural highlights for improving drought tolerance. **Journal of Plant Biology**, v. 57, n. 1, p. 1–8, 2014.
- KUMAR SINGH, Pradyumna et al. Drought Tolerance in Plants: Molecular Mechanism and Regulation of Signaling Molecules. *In*: KHAN, M. Iqbal R. et al. (org.). **Plant Signaling Molecules**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2019. p. 105–123. *E-book*. Disponível em: [http://oar.icrisat.org/11142/1/Plant Signalling Molecules.PDF](http://oar.icrisat.org/11142/1/Plant_Signalling_Molecules.PDF).
- LE, Arve et al. Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity. *In*: SHANKER, A.; VENKATESWARLU, B. (org.). **Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations**. London: IntechOpen, 2011. p. 267–280.
- LI, Yongle et al. Investigating drought tolerance in chickpea using genome-wide association mapping and genomic selection based on whole-genome resequencing data. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–12, 2018.
- MAQBOOL, Muhammad Amir; ASLAM, Muhammad; ALI, Hina. Breeding for improved drought tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Breeding**, v. 136, n. 3, p. 300–318, 2017.
- MONDINI, Linda; NOORANI, Arshiya; PAGNOTTA, Mario A. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity**, v. 1, n. 1, p. 19–35, 2009.
- NADEEM, Muhammad Azhar et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 2, p. 261–285, 2018.
- NADEEM, Muhammad et al. Research Progress and Perspective on Drought Stress in Legumes: A Review. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 2541, 2019.
- NAKASHIMA, Kazuo; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, Kazuko; SHINOZAKI, Kazuo. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1–7, 2014.
- NASCIMENTO, Warley Marcos et al. Grão-de-bico. *In*: NASCIMENTO, Warley Marcos (org.). **Hortaliças Leguminosas**. Brasília - DF: Embrapa, 2016. p. 89–120.
- NASCIMENTO, Sebastião P. do et al. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853–860, 2011.
- OSAKABE, Yuriko et al. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1–8, 2014.
- OZTURK, Munir et al. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 1321–1335, 2021.
- PANG, Jiayin et al. Pattern of water use and seed yield under terminal drought in chickpea genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1375, p. 1–14, 2017.
- PATERNIANI, Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto; GUIMARÃES, Paula de Souza; BERNINI, Cristiani Santos. Melhoramento para tolerância à seca. *In*: FRITSCHÉ-NETO, Roberto; BORÉM, Aluizio (org.). **Melhoramento de plantas para estresses abióticos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2022. p. 142–174.

- PIGLIUCCI, Massimo; MURREN, Courtney J.; SCHLICHTING, Carl D. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 12, p. 2362–2367, 2006.
- PIRASTEH-ANOSHEH, Hadi et al. Stomatal responses to drought stress. *In*: AHMAD, Parvaiz (org.). **Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach**. 1. ed. EUA: Blackwell Pub, 2016. v. 1–2, p. 24–40.
- QUEIROGA, Vicente de Paula. **Grão de bico (Cicer arietinum L.): Tecnologias de plantio e utilização**. 1. ed. Campina Grande: AREPB, 2021.
- RIBEIRO, Tamires et al. Evaluation of common bean genotypes for drought tolerance. **Bragantia**, v. 78, n. 1, p. 1–11, 2019.
- RIECHMANN, J. L. et al. Arabidopsis transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. **Science**, v. 290, n. 5499, p. 2105–2110, 2000.
- SAGLAM, A. et al. The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. **Juss J Plant Physiol**, v. 58, p. 60–68, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S102144371101016X>.
- SAH, Saroj K.; REDDY, Kambham R.; LI, Jiayu. Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–26, 2016.
- SAJJA, Sobhan B.; SAMINENI, Srinivasan; GAUR, Pooran M. Botany of Chickpea. *In*: VARSHNEY, Rajeev K.; THUDI, Mahendar; MUEHLBAUER, Fred (org.). **The Chickpea Genome, Compendium of Plant Genomes**. 1. ed. United States: Springer, 2017. p. 13–24.
- SANTINI, Monia et al. Complex drought patterns robustly explain global yield loss for major crops. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09611-0>.
- SHARMA, Shivali et al. **Chickpea**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2013. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-397935-3.00004-9>.
- SILVA, Samuel et al. Productive parameters of maize under water deficit in different phenological phases in the Brazilian semi-arid. **Irriga**, v. 1, n. 1 Special Issue, p. 30–41, 2021.
- TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6ªed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- THUDI, Mahendar *et al.* Genetic dissection of drought and heat tolerance in chickpea through genome-wide and candidate gene-based association mapping approaches. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. 40–50, 2014.
- TOMBESI, Sergio et al. Stomatal closure is induced by hydraulic signals and maintained by ABA in drought-stressed grapevine. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–12, 2015.
- ULLAH, Abid et al. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. **Environ Sci Pollut Res**, v. 25, p. 33103–33118, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3364-5>.
- VARSHNEY, Rajeev K. *et al.* Genetic dissection of drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n. 2, p. 445–462, 2014.
- VERMA, Rakesh Kumar et al. Overexpression of ABA Receptor PYL10 Gene Confers Drought and Cold Tolerance to Indica Rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. November, p. 1–16, 2019.

VIEIRA RF, Vieira C; RF, Vieira. GRÃO-DE-BICO. *In: LEGUMINOSAS GRANÍFERAS*. Viçosa: Editora UFV, 2001. p. 141–150.

WANG, W., GAO, H., LIANG, Y., LI, J., & WANG, Y. (2022). Molecular basis underlying rice tiller angle: Current progress and future perspectives. *Molecular Plant*, 15(1): 125–137.

WERY, J. et al. Screening techniques and sources of tolerance to salinity and mineral nutrient imbalances in cool season food legumes. *In: MUEHLBAUER, F.J.; KAISER, W.J (org.). Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture: Springer, Dordrecht, 1994. v. 19, p. 439–456.

**CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DE COMPONENTES  
MORFOAGRONÔMICOS E DE RENDIMENTO EM ACESSOS DE  
GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum L.*) SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT  
HÍDRICO**

## RESUMO

No Brasil, esforços de pesquisa estão sendo conduzidos para tentar transformar o grão-de-bico em opção comercial viável para atender tanto o mercado interno quanto o mercado exterior. Esses esforços envolvem a seleção e desenvolvimento de cultivares adaptadas as condições brasileiras para plantio durante o inverno com suplementação de irrigação. Uma alternativa de interesse seria utilizar o grão-de-bico no sistema de safrinha e em plantios de sequeiro. No entanto, somente o desenvolvimento de cultivares com níveis elevados de tolerância ao déficit hídrico viabilizaria o cultivo do grão-de-bico no sistema safrinha. As estimativas dos níveis de tolerância ao estresse hídrico demandam análises de múltiplos parâmetros morfoagronômicos, especialmente em condições de campo. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar uma coleção de diferentes acessos grão-de-bico em relação a aspectos relacionados ao rendimento sob condições impostas de déficit hídrico. Para aspectos produtivos, os materiais que mais se destacaram como os mais resistentes as condições de déficit hídrico foram: FLIP10-321, FLIP10-324, FLIP10-326, FLIP10-328, FLIP10-329, FLIP10-347, FLIP10-348, FLIP10-352, FLIP10-362, FLIP10-370, FLIP10-381, FLIP11-25, FLIP11-179, FLIP11-203, FLIP11-206, FLIP11-207, Cícero, BRS Cristalino, Jamu. Na análise de Componentes Principais os genótipos mais divergentes foram os acessos ILC 3279, Cícero, Jamu. O presente trabalho representa uma etapa primordial no sentido de identificar materiais genéticos mais promissores para os programas de melhoramento visando tolerância ao déficit hídrico. Estes materiais são, portanto, promissores para as próximas etapas de seleção para o programa de melhoramento de grão-de-bico visando a liberação de cultivares com mais ampla adaptação aos diferentes sistemas de cultivo empregados nas condições brasileiras.

**PALAVRAS-CHAVE:** Déficit hídrico, Grão-de-bico, Rendimento, Sequeiro, Tolerância à seca

## ABSTRACT

In Brazil, research efforts are being conducted to convert chickpeas into a viable commercial option for production to both the domestic and foreign markets. These efforts involve the selection and development of cultivars adapted to Brazilian conditions for winter planting with supplemental irrigation. A novel alternative of interest would be to employment of chickpeas in the off-season system and in rainfed plantations. However, only the development of cultivars with high levels of tolerance to water deficit would enable the cultivation of chickpeas in the off-season system. Estimates of water stress tolerance levels require analyzes of multiple morphoagronomic parameters, especially under field conditions. In this context, the present work aimed to evaluate a collection of different chickpea accessions taking into account aspects related to crop production under imposed conditions of water deficit. For yield components, the accessions that stood out as the most resistant to water deficit conditions were: FLIP10-321, FLIP10-324, FLIP10-326, FLIP10-328, FLIP10-329, FLIP10-347, FLIP10-348, FLIP10 -352, FLIP10-362, FLIP10-370, FLIP10-381, FLIP11-25, FLIP11-179, FLIP11-203, FLIP11-206, FLIP11-207, Cícero, BRS Cristalino, and Jamu. In the Principal Component Analysis, the most divergent genotypes were accessions ILC 3279, Cícero, Jamu. The present work represents a primordial step in the sense of identifying more promising genetic materials for breeding programs aimed at tolerance to water deficit. These materials are, therefore, promising for the next stages of selection for the chickpea breeding program aiming at releasing cultivars with greater adaptation to the different cultivation systems used in Brazilian conditions.

**KEYWORDS:** Water deficit, Chickpea, Yield, Rainfed, drought tolerance

## 1 INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é um dos mais importantes componentes da alimentação humana nas regiões áridas e semiáridas do mundo (KHAMSSI et al., 2011). Os são ricos em proteína e carboidratos, sendo também importantes fontes de minerais, fibras e vitaminas. Nos principais países produtores, o grão-de-bico é tradicionalmente cultivado durante o imediatamente após a estação das chuvas. Neste segundo cenário, o estresse de hídrico é a principal limitação à produtividade (KHAMSSI et al., 2011). O Cerrado Brasileiro tem sido a região preferencial para o cultivo de grão-de-bico no país (ARTIAGA et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2016). Esse bioma se caracteriza pela alternância das estações chuvosas e secas. Em geral, as temperaturas não são fatores limitantes nessa região, favorecendo o crescimento e desenvolvimento das culturas o ano todo. A precipitação média da região varia entre 1200 mm e 1700 mm. No entanto, as precipitações são desuniformes durante o ano. Precipitações mínimas inferiores a 20 mm podem ocorrer no período compreendido entre os meses de maio e setembro.

No Brasil, esforços de pesquisa estão sendo conduzidos para tentar transformar o grão-de-bico em opção comercial viável para atender tanto o mercado interno quanto o enorme potencial que representa o mercado exterior. Esses esforços envolvem a seleção e desenvolvimento de cultivares adaptadas as condições brasileiras para plantio durante o inverno com suplementação de irrigação (ARTIAGA et al., 2015; MARIANO, 2020). No entanto, uma das opções alternativas mais interessantes seria utilizar essa cultura no sistema de safrinha e em plantios de sequeiro. Baixos níveis de tolerância ao déficit hídrico tem sido um dos principais fatores que limitam a utilização de culturas durante a safrinha. Nesse sistema, cultivares de milho e soja superprecoces são semeadas nas primeiras chuvas de modo a permitir uma segunda safra (geralmente de milho ou sorgo) com disponibilidade mais limitada de água (SPEHAR; PEREIRA; SOUSA, 2011). O grão-de-bico, por apresentar tolerância à seca, poderia potencialmente participar deste sistema como opção de leguminosa para plantio na segunda safra de verão na região do Cerrado. Para tal se faz necessário selecionar materiais genéticos adaptados, o que envolve, necessariamente, a identificação de acessos com níveis mais elevados de tolerância ao déficit hídrico. A literatura reporta uma enorme variabilidade no germoplasma de grão-de-bico para tolerância à seca (KHAMSSI et al., 2011).

As estimativas dos níveis de tolerância ao estresse hídrico demandam análises de múltiplos parâmetros morfoagronômicos, especialmente em condições de campo (KHAMSSI

et al., 2011). Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar uma coleção de parâmetros morfoagronômicos e aspectos relacionados ao rendimento sob condições impostas de déficit hídrico empregando uma coleção de diferentes acessos e cultivares de grão-de-bico. O objetivo primordial é identificar materiais genéticos promissores para os programas de melhoramento visando uma mais ampla adaptação aos diferentes sistemas de cultivo empregados nas condições brasileiras.

## 2 MATERIAIS & MÉTODOS

### 2.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido em condições de campo, no período de março a agosto de 2022, na área experimental da Embrapa Hortaliças, localizado em Brasília – DF sob as coordenadas: 15° 55' 54' S, 48° 08' 35' W e altitude de 1012 m. De acordo a classificação climática de Köppen, o clima da região é classificado como tropical semiúmido (AW), caracterizando-se por apresentar períodos secos do final de abril ao final de outubro e, períodos chuvosos do final de outubro até meados de abril (ALVARES et al., 2013). A região apresenta temperatura média anual entre 20° a 24°C, com umidade relativa do ar de 50% e precipitação média de 1300 a 1700 mm.

### 2.2 Materiais utilizados

Para avaliação de tolerância ao déficit hídrico foram utilizados 34 genótipos disponibilizados pelo Centro Internacional de Pesquisa Agrícola em Áreas Secas (ICARDA), um teste suscetível e 6 variedades comerciais disponibilizados pela Embrapa Hortaliças, como descrito na **tabela 1**.

**Tabela 1** – Lista de genótipos e cultivares comerciais de grão-de-bico utilizados no experimento

Genótipos				Teste suscetível			
Nº	Denominação	Nº	Denominação	Nº	Denominação		
1	FLIP10-316	13	FLIP10-342	25	FLIP11-157	35	ILC3279
2	FLIP10-319	14	FLIP10-346	26	FLIP11-161		
3	FLIP10-321	15	FLIP10-347	27	FLIP11-179	<b>Cultivares comerciais</b>	
4	FLIP10-322	16	FLIP10-348	28	FLIP11-182	Nº	Denominação
5	FLIP10-323	17	FLIP10-349	29	FLIP11-187	36	BRS TORO
6	FLIP10-324	18	FLIP10-352	30	FLIP11-203	37	CÍCERO
7	FLIP10-326	19	FLIP10-362	31	FLIP11-206	38	ALEPPO
8	FLIP10-327	20	FLIP10-370	32	FLIP11-207	39	CRISTALINO
9	FLIP10-328	21	FLIP10-381	33	FLIP11-213	40	KALIFA
10	FLIP10-329	22	FLIP10-383	34	FLIP11-224	41	JAMU
11	FLIP10-330	23	FLIP11-25				
12	FLIP10-341	24	FLIP11-97				

## 2.3 Implantação e condução

O plantio foi realizado em março (21/03/2022) e adotado o sistema de plantio direto. Com base nos dados da análise de solo (**tabela 2**), e interpretação baseada no descrito por Sousa; Lobato, (2004) , foi calculada a recomendação de adubação da área. Os sulcos foram abertos na profundidade de 10 cm e aplicados 57 kg de superfosfato triplo ( $P_2O_5$ ) e 5,8 kg de Cloreto de potássio ( $K_2O$ ) no plantio e, 2,64 kg de ureia como adubação cobertura seguindo a recomendação descrita por Nascimento et al., (2016). As sementes foram tratadas com fungicida recomendado para a cultura do feijão, composto por 10g/L Metalaxil-M + 25g/L Fludioxonil na dosagem de 100 mL p.c / 100 Kg de sementes.

Para recomendação de adubação foi realizada análise do solo da área. Foram coletadas amostras aleatórias na profundidade de 0-20 cm e 20-40 cm e enviadas ao laboratório de análise de solo da Embrapa Hortaliças para avaliação química e física. A análise granulométrica indicou textura de solo argiloso (58% de argila, 35 % de silte e 7 % areia) (**tabela 2**). Testes de laboratório mostraram que o solo do local possui densidade média aparente ( $D_a$ ) de 1,1  $g/cm^3$ .

**Tabela 2** – Atributos químicos do solo da área anterior à instalação do experimento e textura física do solo

Análise química									
Amostra	pH ( $H_2O$ )	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	Matéria Orgânica
		-----mg $dm^{-3}$ -----			-----Cmol <sub>c</sub> $dm^{-3}$ -----				g $dm^{-3}$
0 – 20 cm	6,3	2,1	180	24	2,4	1,8	0,1	3,0	27,9
20 – 30 cm	5,9	5,3	345	32	2,6	1,7	0,2	4,6	39,0
Análise química									
Granulometria									
Amostra	B	Cu	Fe	Mn	Zn	S	Argila	Silte	Areia
	-----mg $dm^{-3}$ -----								
0 – 20 cm	0,04	1,3	38,3	23,8	1,2	19,5	580	350	7
20 – 30 cm	0,05	1,8	58,3	42,2	3,0	11,3			

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo – Brasília (DF).

O delineamento adotado foi em blocos casualizados, no esquema 3 x 41. Cada parcela experimental foi composta de 5 linhas de plantio com 1,5 metros e espaçamento de 10 cm entre plantas e 50 cm entre linhas, com total de 10 sementes viáveis por metro linear. A semeadura foi feita de forma manual. Durante a condução do experimento, foi feito o manejo de plantas daninhas com adoção de capina manual periódica e aplicação de inseticida à base de lambda-

cialotrina na dosagem de 30 mL p.c./ha, recomendado para a cultura, na fase de enchimento de grãos para combater a lagarta-das-vagens (*Helicoverpa armigera*).

Devido à ausência de chuva, houve a necessidade de irrigar o experimento para proporcionar condição de germinação das sementes e de desenvolvimento inicial das plantas. Foram aplicadas 11 irrigações em 30 dias com duração de 1 hora cada. A intensidade de aplicação foi de 5,20 mm/h com espaçamento entre aspersores de 12 x 12. A última irrigação foi aplicada dia 25/04/2022.

Para monitorar a umidade do solo, foram realizadas coletas de amostras de solo com auxílio de um trado. Ao total, foram realizadas 11 coletas de solo, sendo 4 durante o período de irrigação, um dia após a aplicação e, 7 coletas após a suspensão da irrigação, com períodos espaçados ao longo da duração do experimento. A profundidade de coleta adotada foi de 0-20 cm. Para o monitoramento do conteúdo de água do solo foi utilizado o método gravimétrico e também calculada a umidade volumétrica.

As amostras de solo coletadas foram colocadas em recipiente alumínio com tampa para evitar a evaporação do conteúdo de água na amostra, durante o transporte até o local de pesagem e armazenagem. No laboratório de irrigação, as amostras foram previamente pesadas em balança de precisão e levadas à estufa de secagem a 105° C por 48 horas seguindo as normas do método análise de solo descritos por Viana; Teixeira; Donagemma, (2017). Após este período, foi realizada a pesagem da amostra seca e do recipiente alumínio para retirada da tara, para o cálculo da umidade gravimétrica.

A umidade gravimétrica (%), é a relação do conteúdo de água e de sólidos contidos em uma amostra e solo. O cálculo para obtenção do teor de umidade em cada amostra foi realizado utilizando a fórmula:

$$Ug (\%) = \left[ \frac{(Pu - ps)}{(ps - T)} \right] \times 100$$

Onde: **Ug** – Umidade gravimétrica (%);

**PU** – Peso úmido da amostra (g);

**PS** – Peso seco da amostra (g);

**T** – Peso do recipiente

A umidade volumétrica do solo também foi calculada utilizando a fórmula:

$$Uv (\%) = (Ug \times Ds) \times 100$$

Onde:  $U_v$  – Umidade volumétrica (%);

$U_g$  – Umidade gravimétrica (%);

$D_s$  – Densidade do solo ( $g/cm^3$ );

## 2.4 Avaliações experimentais

Para as avaliações, foram utilizadas cinco (5) plantas coletadas nas linhas centrais de plantio, em cada parcela. Foram avaliadas as seguintes variáveis:

**(01) Altura da planta (cm)** – comprimento da base do nível do solo até a ponta da planta na maturidade;

**(02) Peso por planta (g)** – peso total da planta, incluindo vagens e sementes;

**(03) Peso de sementes por parcela (g)** – peso total da produção de sementes por parcela

**(04) Peso (massa) de vagem (g)** – peso de vagens por planta;

**(05) Número de ramos primários;**

**(06) Número de ramos secundários;**

**(07) Produtividade planta individual (g)** – produção por unidade de planta;

**(08) Peso (massa) de 100 sementes (g)** – peso em gramas de 100 sementes;

**(09) Índice de colheita (%)** – razão entre o peso das sementes em gramas pelo peso da biomassa de plantas em gramas;

**(10) Produtividade ( $kg\ ha^{-1}$ )** – conversão do rendimento por parcela em sementes por hectare;

**(11) Eficiência do uso da água na produtividade** – produtividade do genótipo por mm de água aplicado;

**(12) Matéria seca (kg)** – matéria seca produzida por hectare;

**(13) Eficiência do uso da água na produção de matéria seca** – produção de matéria seca por mm de água aplicado;

**(14) Dias para 50% da floração** – número de dias desde o plantio até o estágio em que 50% das plantas da parcela estiverem em florescimento;

**(15) Dias até a maturação** – número de dias do plantio até o estágio em que 90% das plantas produzam vagens fisiologicamente maduras;

**(16) Peso (massa) de sementes por parcela (g)** – peso total das sementes em cada parcela;

**(17) Altura da primeira vagem (cm)** – comprimento da base da planta até a inserção da primeira vagem;

**(18) Arquitetura de plantas** – ângulo de inserção dos ramos.

## 2.5 Análise de dados

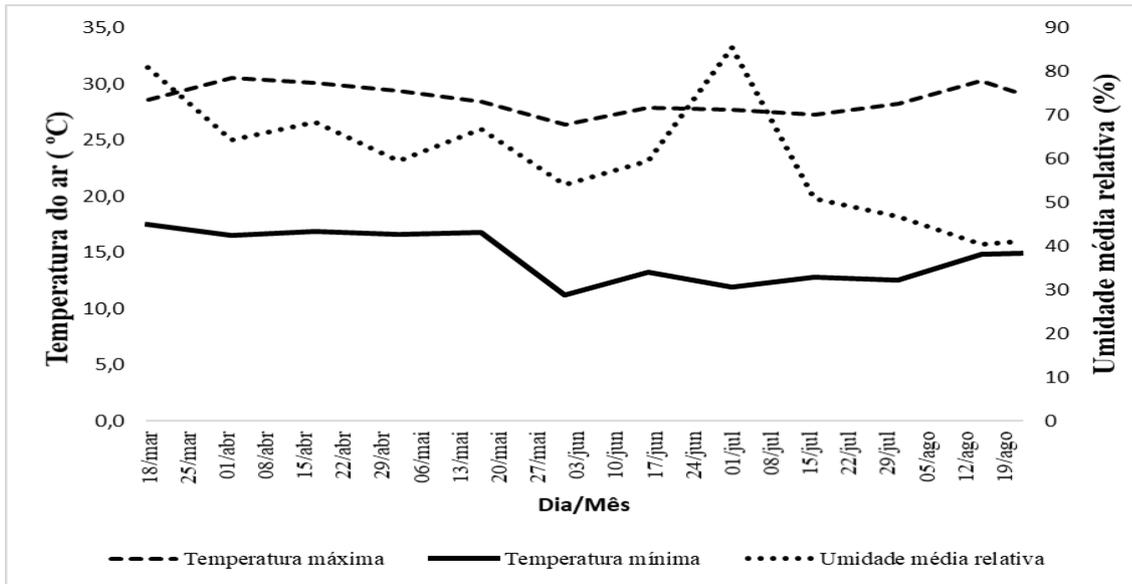
A análise dos dados foi realizada utilizando software estatístico Genes (CRUZ, 1997). Os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade da variância. Para atender os pressupostos de homogeneidade e normalidade da variância, a maioria das variáveis foram transformadas utilizando (raiz quadrada de  $x + 0.5$ ) com exceção da variável eficiência no uso da água na matéria seca, transformada utilizando ( $\log$  de  $x + 1$ ). As variáveis que se adequaram aos pressupostos da estatística paramétrica foram submetidas a análise de variância (ANOVA) e em seguida ao teste de agrupamento de médias Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ). Ao final, foi realizada análise de correlação das variáveis e análise multivariada através da análise dos componentes principais (PCA) utilizando o software estatístico R, a fim de compreender a relação entre as variáveis e os materiais em estudo.

### 3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

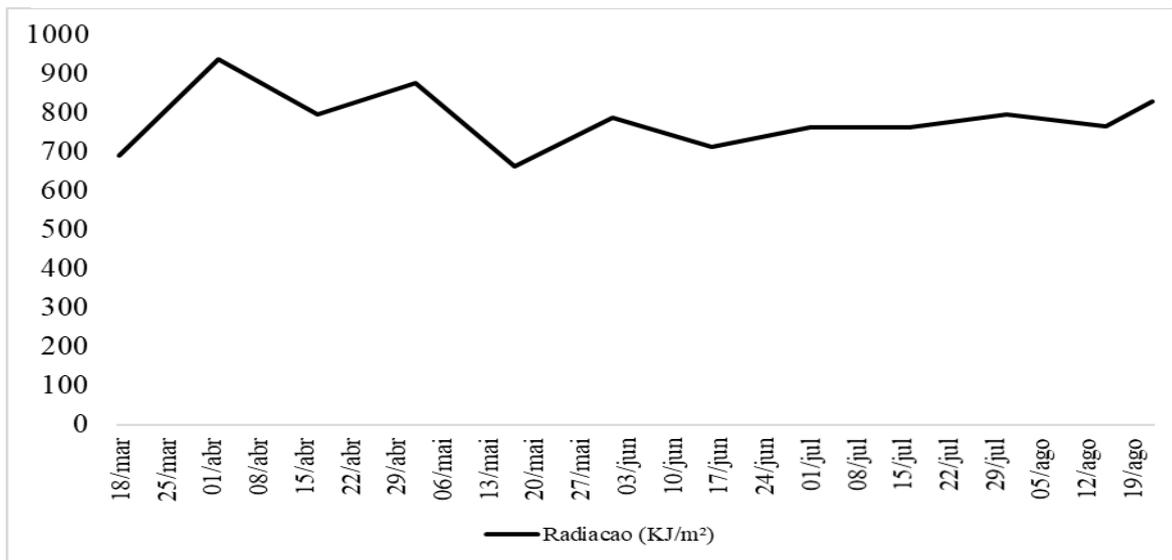
A água é responsável por manter processos vitais a planta e desempenha papel essencial durante todo desenvolvimento vegetal. O fornecimento de água abaixo do requerimento da cultura pode desencadear uma cascata de reações fisiológicas que comprometem desde a germinação das sementes até a produtividade de um cultivo (TAIZ et al., 2017). Apesar do plantio ter sido realizado na época recomendada, durante o experimento, o regime de chuva foi insuficiente para o desenvolvimento inicial das plantas. Da data de semeadura (18/03/2022) até o início da floração (22/04/2022), o volume pluviométrico registrado foi de 68,2 mm. Como aplicação suplementar, foi necessário a montagem de irrigação que forneceu ao experimento o total acumulado de 57,2 mm. Ao todo, a cultura recebeu 125,4 mm de água, o equivalente a 1.254 m<sup>3</sup>/ha.

Para plantio sequeiro de grão-de-bico, tem sido relatado volume pluviométrico de 305 mm (MOREIRA, 2020) e 319,5 mm (ARTIAGA et al., 2015), de março a maio no bioma cerrado, volumes superiores aos registrados neste trabalho. A irrigação suplementar foi responsável por fornecer 5,20 mm/h de água em cada irrigação. A recomendação para a cultura do grão-de-bico é de 15 mm/h até o 15º dia após a emergência e 25 mm/h a partir de 16º dia após a emergência até a fase de florescimento e enchimento de grãos (NASCIMENTO et al., 2016). Nestas condições, os acessos de grão-de-bico aqui avaliados, estavam sob forte estresse hídrico desde o plantio.

A temperatura é um fator ambiental importante que regula o momento de floração e consequentemente o rendimento de grãos (DEVASIRVATHAM et al., 2015). Durante o estudo, foram registradas temperatura máxima de 30°C, mínima de 11° C e umidade relativa média de 47% (**figura 1**). A radiação média registrada foi de 747,24 KJ/m<sup>2</sup> (**figura 2**).



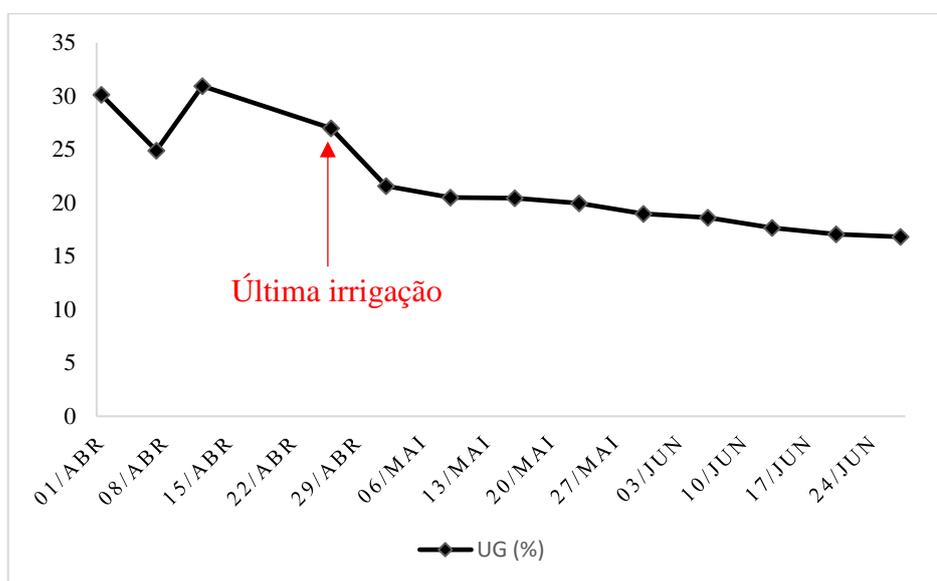
**Figura 1.** Ocorrências climáticas mensais e diárias de temperatura (°C) e umidade média relativa do ar (%), durante os meses de março a agosto de 2022. **Fonte:** Inmet (2022)(<http://www.inmet.gov.br/porta/>)



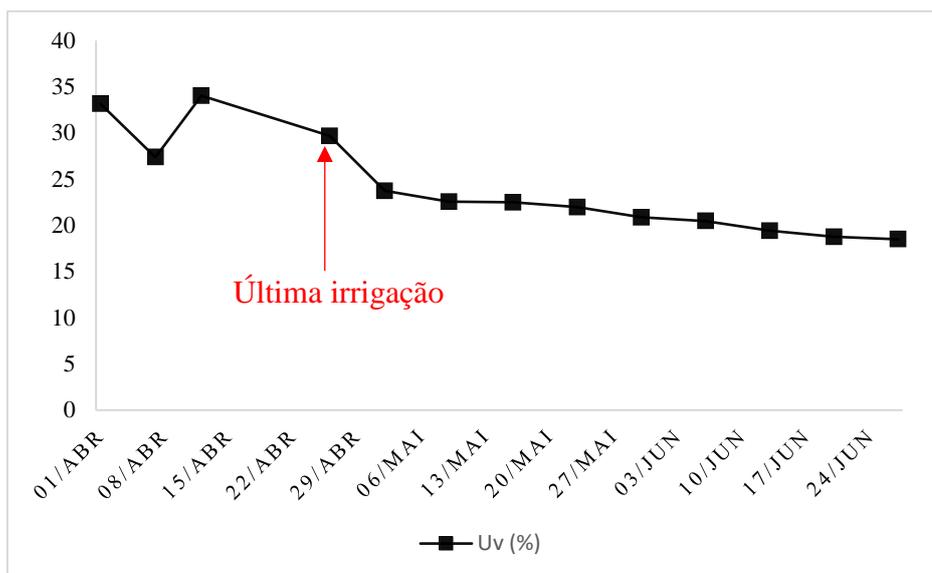
**Figura 2** – Ocorrências climáticas mensais e diárias de radiação solar (KJ/M<sup>2</sup>), durante os meses de março a agosto de 2022. **Fonte:** Inmet (2022)(<http://www.inmet.gov.br/porta/>)

O grão-de-bico é sensível a temperaturas abaixo de 15°C, principalmente durante a fase de florescimento (TAYLOR et al., 2003). Temperaturas acima de 30°C, durante o estágio reprodutivo acarretam no abortamento de flores e vagens comprometendo a produtividade (MINCHIN et al., 1984; RANI et al., 2020).

A umidade do solo foi monitorada durante 90 dias. Durante o período de irrigação (4 semanas), o solo apresentou umidade gravimétrica (Ug) de 30% (01/04), 24,88% (07/04), 30,94% (12/04) e 26,98% (26/04). Após o corte da irrigação, a umidade gravimétrica do solo diminuiu gradativamente, chegando a 16,81% na data da última análise (**figura 3**). A umidade volumétrica (Uv) do solo durante as quatro semanas de irrigação, foi de 33,14%, 27,36%, 34,03% e 29,67% e, após o corte de irrigação, foi observada na última análise 18,49% de Umidade volumétrica no solo (**figura 4**).



**Figura 3** – Umidade gravimétrica do solo na área experimental, durante os meses de abril a junho de 2022.



**Figura 4** – Umidade volumétrica do solo na área experimental, durante os meses de abril a junho de 2022.

A análise de variância demonstrou efeito significativo entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) para as características avaliadas: altura, peso de planta, peso de vagem, número de ramos primários, número de ramos secundários, produtividade por planta, peso de 100 sementes, índice de colheita, produtividade por hectare, eficiência do uso da água na produtividade, matéria seca, eficiência no uso da água na produção de matéria seca, dias para 50% da floração, dias para 90% da maturação (**tabela 3**). Para a característica altura de primeira vagem, a análise de variância apresentou efeito não significativo ( $p < 0,05$ ).

O coeficiente de variação experimental (CV), variou de 0,91 a 27,39% entre as características avaliadas. De acordo Ferreira (2018), o índice de variação até 30% é aceitável. Para Schmildt et al., (2017), é necessária uma nova classificação de coeficiente variação que leve em consideração não somente as espécies estudadas, mas também a natureza das variáveis avaliadas e o tipo de experimentação aos quais os dados se referem.

**Tabela 3** – Resumo da análise de variância dos caracteres ALTP – altura (cm), PP – peso de planta (g), PSP – peso de sementes/parcela (g), PV – peso de vagem (g), ALTV – altura da primeira vagem (cm), NRP – número de ramos primários, NRS – número de ramos secundários, PDV\_P – produtividade por planta (g), P100 – peso de cem sementes (g), IC – Índice de colheita (%), PDV\_HA – produtividade por hectare ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), EWA\_PD – eficiência do uso da água na produtividade ( $\text{kg/mm}$ ), MS – matéria seca (kg), EWA\_MS – eficiência do uso da água na

produção de matéria seca (kg/mm), DFLOR – dias para floração (dias), DMAT – dias para maturação (dias).

Quadrados Médios

FV	GL	ALTP	PP	PSP	PV
<b>Blocos</b>	2	185,29 ns	341,30 ns	76902,07	157,87 ns
<b>Tratamentos</b>	40	123,67 **	150,33**	30246,85	66,70 **
<b>Resíduo</b>	80	23,10	39,76	5416,96	13,12
<b>Médias</b>		36,98	18,83	155,76	8,92
<b>CV (%)</b>		6,55	18,30	27,23	22,79

FV	GL	ALTV	NRP	NRS	PDV_P
<b>Blocos</b>	2	149,61 ns	0,0159 ns	0,0983 ns	30,76 ns
<b>Tratamentos</b>	40	49,57 ns	0,1787 **	2,48 **	12,09 **
<b>Resíduo</b>	80	28,11	0,0276	0,2915	2,16
<b>Médias</b>		22,46	2,10	3,59	3,12
<b>CV (%)</b>		14,91	3,08	6,45	21,29

FV	GL	P100	IC	PDV_HA	EWA_PD
<b>Blocos</b>	2	76,29 ns	1029,57 ns	435962,19 ns	32,77 ns
<b>Tratamentos</b>	40	103,01 **	392,55 **	171466,18 **	12,87 **
<b>Resíduo</b>	80	34,8294	42,27	30707,87	2,30
<b>Médias</b>		31,62	27,04	370,85	3,21
<b>CV (%)</b>		13,33	16,64	27,39	21,41

FV	GL	MS	EWAMS	DFLOR	DMAT
<b>Blocos</b>	2	1438409,83 ns	107,99 ns	12,1301 ns	11,57 ns
<b>Tratamentos</b>	40	732392,30 **	54,97 **	101,00 **	135,12 **
<b>Resíduo</b>	80	205661,35	15,44	0,9967	1,11
<b>Médias</b>		1207,60	10,46	52,85	115,02
<b>CV (%)</b>		20,36	19,14	0,97	0,91

FV = fonte de variação, GL = grau de liberdade, \*\* significativo ( $p < 0,05$ ) pelo teste de F

Os resultados referente ao agrupamento de médias estão representados na **tabela 4**, para as características: altura de planta (ALTP), peso total da planta (PP), peso de vagens por planta (PV), número de ramos primários (NRP), número de ramos secundários (NRS), produtividade por planta (PDV\_P), peso de 100 sementes (P100), índice de colheita (IC), produtividade por hectare (PDV\_HA), eficiência no uso da água na produtividade (EWAPD), matéria seca (MS), eficiência no uso da água na produção de matéria seca (EWAMS), dias para 50% da floração (DFLOR), dias para 90% de maturação das vagens (DMAT).

**Tabela 4** - Médias das variáveis agronômicas ALTP – altura (cm), PP – peso de planta (g), PSP – peso de sementes / parcela (g), PV – peso de vagem (g), NRP – número de ramos primários, NRS – número de ramos secundários, PDV\_P – produtividade por planta (g), P100 – peso de cem sementes (g), IC - Índice de colheita (%), PDV\_HA – produtividade por hectare (kg ha<sup>-1</sup>), EWA\_PD – eficiência do uso da água na produtividade por hectare (kg/ha<sup>-1</sup>/mm), MS – matéria seca (kg ha<sup>-1</sup>), EWA\_MS – eficiência do uso da água na produção de matéria seca (kg/ha<sup>-1</sup>/mm), DFLOR – dias para floração (dias), DMAT – dias para maturação (dias).

Nº	NOME	ALTP	PP	PSP	PV	NRP	NRS	PDV_P	P100
1	FLIP10-316	40,13 c	14,40 b	67,88 b	5,00 b	2,00 c	3,80 b	1,36 c	34,44 b
2	FLIP10-319	40,53 c	10,93 b	15,43 c	2,18 b	1,93 c	3,53 b	0,31 c	34,99 b
3	FLIP10-321	45,15 b	27,80 a	196,62 a	11,74 a	2,00 c	4,20 b	3,94 a	28,11 c
4	FLIP10-322	34,09 c	12,13 b	36,37 c	3,31 b	2,07 c	3,40 b	0,73 c	19,11 c
5	FLIP10-323	38,33 c	14,67 b	54,60 c	6,00 b	2,13 c	4,20 b	1,09 c	28,12 c
6	FLIP10-324	55,93 a	30,20 a	234,98 a	11,93 a	2,27 c	3,73 b	4,70 a	33,00 c
7	FLIP10-326	35,33 c	30,27 a	250,98 a	20,20 a	2,13 c	3,53 b	5,02 a	30,00 c
8	FLIP10-327	37,20 c	15,00 b	83,29 b	6,20 b	2,00 c	3,33 b	1,67 b	27,59 c
9	FLIP10-328	37,53 c	22,67 a	195,56 a	11,40 a	2,00 c	3,47 b	3,91 a	32,16 c
10	FLIP10-329	36,13 c	20,67 a	158,75 a	10,93 a	2,13 c	3,53 b	3,18 b	29,67 c
11	FLIP10-330	35,93 c	12,93 b	111,70 b	6,13 b	2,07 c	2,80 c	2,23 b	31,78 c
12	FLIP10-341	38,30 c	10,67 b	28,67 c	2,40 b	2,13 c	4,00 b	0,57 c	25,59 c
13	FLIP10-342	30,07 c	15,07 b	107,12 b	5,80 b	1,93 c	3,07 c	2,14 b	31,49 c
14	FLIP10-346	32,60 c	19,40 a	123,96 b	9,27 a	2,00 c	3,67 b	2,48 b	37,33 b
15	FLIP10-347	34,80 c	20,13 a	182,36 a	9,67 a	2,00 c	3,07 c	3,65 a	38,67 b
16	FLIP10-348	43,47 b	37,27 a	403,92 a	19,87 a	3,20 a	6,93 a	8,08 a	32,33 c
17	FLIP10-349	31,67 c	11,00 b	45,24 c	3,67 b	2,00 c	2,27 d	0,91 c	24,21 c
18	FLIP10-352	46,00 b	28,00 a	209,87 a	13,00 a	2,13 c	4,00 b	4,20 a	36,00 b
19	FLIP10-362	30,07 c	27,80 a	327,64 a	16,93 a	2,87 b	6,53 a	6,55 a	37,33 b
20	FLIP10-370	40,93 c	42,74 a	241,43 a	11,07 a	1,87 c	3,60 b	4,83 a	30,33 c
21	FLIP10-381	38,00 c	23,07 a	228,37 a	13,07 a	2,00 c	3,80 b	4,57 a	26,67 c
22	FLIP10-383	38,60 c	9,13 b	20,53 c	2,49 b	2,13 c	3,47 b	0,41 c	30,58 c
23	FLIP11-25	40,07 c	20,4 a	247,01 a	11,07 a	2,07 c	3,47 b	4,94 a	38,67 b
24	FLIP11-97	40,87 c	20,20 a	113,82 b	8,60 a	2,13 c	4,33 b	2,28 b	28,40 c
25	FLIP11-157	30,93 c	17,60 b	100,58 b	8,47 b	2,40 c	3,73 b	2,01 b	24,68 c
26	FLIP11-161	34,10 c	17,17 b	106,74 b	7,82 b	2,13 c	3,77 b	2,13 b	26,00 c
27	FLIP11-179	35,07 c	22,20 a	256,32 a	12,60 a	2,20 c	4,00 b	5,12 a	32,67 c
28	FLIP11-182	32,93 c	16,63 b	152,32 b	9,13 a	2,07 c	2,73 c	3,05 b	30,33 c
29	FLIP11-187	35,20 c	17,93 b	119,07 b	8,04 b	2,07 c	3,27 b	2,38 b	29,19 c
30	FLIP11-203	37,27 c	22,13 a	393,53 a	13,67 a	1,80 c	2,93 c	7,87 a	39,67 b
31	FLIP11-206	34,13 c	17,73 b	268,58 a	12,67 a	1,93 c	3,73 b	5,37 a	34,33 b
32	FLIP11-207	38,60 c	25,80 a	277,08 a	15,33 a	1,93 c	3,67 b	5,54 a	30,00 c
33	FLIP11-213	33,20 c	8,73 b	75,00 b	4,09 b	2,07 c	2,60 c	1,5 b	29,54 c
34	FLIP11-224	33,27 c	19,67 a	143,97 b	7,27 b	1,93 c	3,67 b	2,88 b	29,00 c
35	ILC3279	60,33 a	27,13 a	36,78 c	4,47 b	2,07 c	3,93 b	0,73 c	25,11 c
36	BRS TORO	30,53 c	12,40 b	84,88 b	5,20 b	2,00 c	3,40 b	1,70 b	35,03 b
37	CÍCERO	32,07 c	12,87 b	184,06 a	7,87 b	1,93 c	2,27 d	3,68 a	53,33 a
38	BRS ALEPPO	34,63 c	10,13 b	57,08 c	2,93 b	2,00 c	2,87 c	1,14 c	33,08 c
39	BRS CRIST	33,93 c	28,4 a	232,05 a	14,40 a	2,00 c	4,0 b	4,64 a	34,33 b
40	BRS KALIFA	31,33 c	7,80 b	36,73 c	1,97 b	2,20 c	3,20 b	0,71 c	23,90 c
41	JAMU	26,80 c	11,47 b	176,78 a	7,73 b	2,00 c	1,80 d	3,53 a	39,74 b
	<b>MÉDIAS</b>	36,98	19,33	155,8	8,92	2,1	4,47	2,99	31,62

Continuação.

Nº	NOME	IC	PDV_HA	EWAPD	MS	EWAMS	DFLOR	DMAT
1	FLIP10-316	17,28 c	161,61 b	1,40 c	853,12 b	7,39 b	51,67 f	111,67 f
2	FLIP10-319	7,03 d	36,73 c	0,32 c	600,53 b	5,20 b	50,67 f	105,67 i
3	FLIP10-321	28,74 b	468,15 a	4,06 a	1534,48 a	13,30 a	59,00 c	116,00 e
4	FLIP10-322	11,33 d	86,59 c	0,75 c	666,46 b	5,78 b	51,00 f	112,00 f
5	FLIP10-323	21,69 c	113,61 c	1,13 c	666,72 b	5,78 b	57,67 c	117,67 d
6	FLIP10-324	26,99 c	559,48 a	4,85 a	2048,36 a	17,75 a	48,67 g	113,67 e
7	FLIP10-326	34,74 b	597,58 a	5,18 a	1689,84 a	14,64 a	56,00 d	120,00 c
8	FLIP10-327	22,83 c	198,30 b	1,72 b	789,11 b	6,84 b	53,00 f	117,00 d
9	FLIP10-328	32,25 b	465,61 a	4,03 a	1415,34 a	12,26 a	52,00 f	117,00 d
10	FLIP10-329	30,73 b	377,98 a	3,27 a	1070,95 b	9,28 b	56,33 d	113,33 f
11	FLIP10-330	23,12 c	265,96 b	2,30 b	865,41 b	7,50 b	51,00 f	110,00 g
12	FLIP10-341	10,11 d	68,26 c	0,59 c	683,45 b	5,92 b	54,00 e	117,00 d
13	FLIP10-342	26,71 c	255,04 b	2,21 b	900,32 b	7,80 b	52,00 f	116,00 e
14	FLIP10-346	29,06 b	295,14 b	2,56 b	1003,29 b	8,70 b	62,33 b	124,33 b
15	FLIP10-347	31,37 b	434,19 a	3,77 a	1393,63 a	12,08 a	51,67 f	112,67 f
16	FLIP10-348	41,05 a	961,72 a	8,33 a	2337,03 a	20,25 a	51,00 f	112,00 f
17	FLIP10-349	11,29 d	107,72 c	0,93 c	623,02 b	5,40 b	55,67 d	117,67 d
18	FLIP10-352	27,82 c	499,68 a	4,33 a	1749,00 a	15,15 a	51,33 f	113,33 f
19	FLIP10-362	47,41 a	780,09 a	6,76 a	1605,99 a	13,92 a	49,67 g	107,67 h
20	FLIP10-370	31,10 b	574,83 a	4,98 a	1777,99 a	15,41 a	54,33 e	124,33 b
21	FLIP10-381	37,56 b	543,73 a	4,71 a	1420,96 a	12,31 a	59,67 c	115,67 e
22	FLIP10-383	9,49 d	48,87 c	0,42 c	443,67 b	3,85 b	53,67 e	114,67 e
23	FLIP11-25	36,53 b	588,12 a	5,09 a	1576,65 a	13,66 a	51,33 f	115,33 e
24	FLIP11-97	19,87 c	271,00 b	2,35 b	1305,42 a	11,31 a	57,00 d	117,00 d
25	FLIP11-157	24,96 c	239,47 b	2,07 b	856,89 b	7,43 b	56,33 d	115,33 e
26	FLIP11-161	22,02 c	254,14 b	2,20 b	1101,63 b	9,54 b	49,00 g	111,00 f
27	FLIP11-179	37,02 b	610,29 a	5,29 a	1667,13 a	14,45 a	55,67 d	111,00 f
28	FLIP11-182	26,32 c	362,67 b	3,14 b	1137,05 b	9,85 b	51,33 f	115,33 e
29	FLIP11-187	23,74 c	283,49 b	2,46 b	1024,08 b	8,87 b	54,67 e	115,33 e
30	FLIP11-203	44,43 a	936,96 a	8,12 a	2078,72 a	18,01 a	55,33 d	116,33 d
31	FLIP11-206	39,87 a	639,49 a	5,54 a	1609,46 a	13,95 a	52,67 f	111,67 f
32	FLIP11-207	40,22 a	659,72 a	5,72 a	1599,34 a	13,86 a	48,33 g	112,33 f
33	FLIP11-213	24,44 c	178,58 b	1,55 b	735,26 b	6,37 b	58,67 c	117,67 d
34	FLIP11-224	22,91 c	342,78 b	2,97 b	1346,34 a	11,66 a	49,33 g	108,33 h
35	ILC3279	4,35 d	87,57 c	0,76 c	1884,30 a	16,33 a	71,33 a	146,33 a
36	BRS TORO	22,55 c	202,10 b	1,75 b	694,54 b	6,02 b	47,67 g	114,67 e
37	CÍCERO	41,08 a	438,23 a	3,80 a	1022,55 b	8,86 b	39,67 h	115,67 e
38	BRS ALEPPO	17,91 c	135,91 c	1,18 c	703,37 b	6,09 b	48,33 g	117,33 d
39	BRS CRIST	31,50 b	552,51 a	4,79 a	1737,11 a	15,05 a	51,33 f	109,33 g
40	BRS KALIFA	14,22 d	83,62 c	0,70 c	487,53 a	4,23 b	52,67 f	116,67 d
41	JAMU	51,83 a	420,89 a	3,65 a	805,53 a	6,98 b	33,67 i	99,67 j
<b>MÉDIAS</b>		26,96	370,45	3,21	1207,60	10,46	52,85	115,02

Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Scoot Knoot a 5%

A comparação entre médias para a característica altura de plantas variou de 26,80 cm (JAMU) a 60,33 cm (ILC 3279), com valor total de média entre os tratamentos de 36,98 cm. Os genótipos FLIP10-324 e o teste suscetível ILC 3279 apresentaram maior altura, em relação aos demais ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna). Os genótipos FLIP10-321, FLIP10-348 e FLIP10-352, apresentaram altura média ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna). Os 28 genótipos restantes e as 5 cultivares comerciais apresentaram médias de alturas inferiores ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna), com valores variando de 26,80 a 40,93 cm (**tabela 4**).

Este resultado é semelhante ao relatado por Artiaga et al., (2015), que ao avaliar genótipos de grão-de-bico em cultivo sequeiro para o cerrado, em diferentes épocas de semeadura, observou variação de altura entre os genótipos de 26 cm a 83 cm, com médias totais para cada época de semeadura de 67, 47 e 48 cm. A mecanização é um obstáculo para a expansão da produção de grão-de-bico (BASHA et al., 2018). A altura de plantas é um importante parâmetro a ser considerado em um programa de melhoramento visando a colheita mecanizada. Segundo Madhuri; Jayalakshmi, (2020), a média de altura para a cultura varia de 35 a 45 cm e, as cultivares favoráveis a mecanização apresentam alturas de 30 a 40% superiores as médias relatadas. Visando a seleção baseada na altura para colheita mecanizada, os genótipos que melhor se destacaram foram FLIP10-324, ILC 3279, FLIP10-321, FLIP10-348, FLIP10-352.

O peso total de planta apresentou formação de dois grupos distintos com valores de média variando de 7,80 g (BRS KALIFA) a 42,74 g (FLIP10-370). Dentre os 41 tratamentos, 19 genótipos e 1 cultivar comercial apresentaram médias de peso total estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna), aos apresentados pelos outros 16 genótipos e 5 cultivares comerciais ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (**tabela 4**).

O peso de vagem por planta diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Ao total, 19 genótipos e uma cultivar comercial apresentaram médias superiores ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna), os demais genótipos e as 5 cultivares comerciais restantes apresentaram médias inferiores ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) variando de 1,97 g (BRS KALIFA) a 8,47 g (FLIP11-157) (**tabela 4**).

Para o número de ramos primários, a comparação entre médias apresentou formação de três grupos estatisticamente distintos, com médias variando de 1,80 (FLIP11-203) a 3,20 (FLIP10-348). O genótipo FLIP10-348 apresentou maior número de ramos primários ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna), seguido do genótipo FLIP10-362 com média de 2,87 ( $p < 0,05$ , letra 'b' na

coluna). Os demais genótipos, cultivares comerciais e o teste suscetível apresentaram médias de ramos primários estatisticamente inferiores ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (tabela 4).

A característica número de ramos secundários apresentou formação de quatro grupos estatisticamente distintos. Os genótipos FLIP10-348 e FLIP10-362 apresentaram maior número de ramos secundários ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (tabela 4). O segundo grupo formado por 25 genótipos, o teste suscetível e três cultivares comerciais não diferiram estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna), apresentando intervalo de valores médios de 3,20 (BRS KALIFA) a 4,33 (FLIP11-97) (tabela 4). Outros seis genótipos e uma cultivar comercial formaram o terceiro grupo ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) com médias de 2,60 (FLIP11-213) a 3,07 (FLIP10-347). As cultivares Jamu, Cícero e o genótipo FLIP10-349 apresentaram os menores valores médios de ramos secundários, 1,80, 2,27 e 2,27 respectivamente, formando o quarto grupo ( $p < 0,05$ , letra 'd' na coluna) (tabela 4).

Pela análise de variância a produtividade por planta demonstrou efeito significativo entre os tratamentos. Do total dos tratamentos, 15 genótipos e as cultivares comerciais Cícero, BRS Cristalino e Jamu apresentaram médias superiores aos demais ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (tabela 4), com valores variando de 3,53 g (Jamu) a 8,08 g (FLIP10-348). A cultivar Toro e outros 12 genótipos apresentaram média produtividade por planta ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (tabela 4), com intervalo de valores de 1,5 g (FLIP11-213) a 3,05 g (FLIP11-182). Os demais genótipos, duas variedades comerciais e o teste suscetível ILC 3279, apresentaram produtividade por plantas inferiores ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (tabela 4).

Para a característica peso de 100 sementes os valores variaram de 19,11 a 53,33 g, com média total entre os tratamentos de 31,62 g. Estes valores são superiores aos relatados por Madhuri; Jayalakshmi, (2020), que avaliando genótipos de grão-de-bico para alta produtividade em cultivo sequeiro, relataram peso de 100 sementes em intervalos de 16 a 32,3 g. A cultivar comercial Cícero apresentou o maior peso de 100 sementes em relação as demais ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) . Outros 9 genótipos e 3 cultivares comerciais, apresentaram valores intermediários (34,33 a 39,74 g), caracterizados, neste trabalho, como peso médio de 100 sementes ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (tabela 4). O genótipo FLIP10-322 apresentou a menor média entre os tratamentos (19,11 g), entretanto, não diferiu estatisticamente de outros 25 genótipos, o teste suscetível e as cultivares comerciais BRS Aleppo e BRS Kalifa ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (tabela 4).

Avaliando diferentes genótipos em condições de cerrado e déficit hídrico, Moreira, (2020) observou variação no peso de 100 sementes de 21,80 (FLIP11-119) a 53,83 g (FLIP11-161), resultado semelhante ao observado no presente trabalho.

O peso de 100 sementes é uma importante medida de rendimento e é considerado como um indicador útil no monitoramento e seleção de genótipos de interesse. De acordo Serraj et al., (2004), esta característica parece ser estável ao longo do tempo e do ambiente, apresentando menor interação genótipo  $\times$  ambiente (G  $\times$  A).

No agrupamento entre médias para índice de colheita houve a formação de quatro grupos estatisticamente distintos. Os tratamentos que apresentaram maior índice de colheita ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (**tabela 4**) foram: Jamu (51,83), FLIP10-362 (47,41), FLIP11-203 (44,43), Cícero (41,08), FLIP10-348 (41,05), FLIP11-207 (40,22), FLIP11-206 (39,87). O segundo grupo, formado por 10 genótipos e a cultivar BRS Cristalino ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (**tabela 4**), apresentaram valores entre 28,74 (FLIP10-321) e 37,56 (FLIP10-381). O terceiro grupo é formado por 14 genótipos e duas cultivares comerciais ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (**tabela 4**). Os demais tratamentos obtiveram índice de colheita inferiores, sendo o teste suscetível ILC 3279, o tratamento que apresentou o menor resultado ( $p < 0,05$ , letra 'd' na coluna) (**tabela 4**).

O índice de colheita no contexto agrônomo é utilizado como indicativo de eficiência produtiva (DURÃES; MAGALHÃES; OLIVEIRA, 2002). Genótipos que apresentam altos índices de colheita, são mais promissores para utilizar no melhoramento para a tolerância à seca em grão-de-bico, pois evidenciam a capacidade dos materiais em direcionar fotoassimilados para a órgãos de rendimento econômico. Os índices de colheita observados neste trabalho, foram superiores aos encontrados por Artiaga et al., (2015), que avaliando genótipos de grão-de-bico em condições similares as do presente trabalho, obteve variação para a característica de 5,67 a 37,24%. Entretanto, Madhuri; Jayalakshmi, (2020), relatam índices de colheita superiores aos aqui relatados para plantio em condições de sequeiro.

Em relação a produtividade por hectare, 16 genótipos e 3 variedades comerciais se destacaram como as mais produtivas ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (**tabela 4**). Apesar de não haver diferença estatística dentro deste grupo, foi observado intervalo de médias que variam de 377,98 kg ha<sup>-1</sup> a 961,72 kg ha<sup>-1</sup>. Dentre os tratamentos que se destacaram, os que apresentaram maiores médias de produtividade foram: FLIP11-203 (961,72 kg ha<sup>-1</sup>), FLIP10-348 (936,96 kg ha<sup>-1</sup>) e FLIP10-362 (780,09 kg ha<sup>-1</sup>), médias de produtividade superiores as relatadas por ARTIAGA et al., (2015), em condição de sequeiro.

Outros 12 genótipos e a cultivar BRS Toro, apresentaram produtividade média variando de 161,03 kg ha<sup>-1</sup> a 362,67 kg ha<sup>-1</sup> (p<0,05, letra 'b' na coluna) (**tabela 4**). O teste suscetível (ILC 3279), não diferiu estatisticamente de outros 5 genótipos e as cultivares BRS Kalifa e BRS Aleppo, todos apresentando baixa produtividade (**tabela 4**). A produtividade média total, apresentada neste trabalho de 370,45 kg ha<sup>-1</sup>, está de acordo com a média mundial de produção de grão-de-bico em plantio sequeiro. Entretanto, alguns materiais apresentaram produtividades superiores a produtividade mundial para a cultura, em plantio com suplementação de irrigação de 900 a 1200 kg ha<sup>-1</sup>. As temperaturas mínimas registradas ao longo do experimento podem ter afetado a produtividade de alguns genótipos, pois além do estresse hídrico sofrido, em alguns dias as temperaturas ficaram abaixo de 10 °C. De acordo Taylor et al., (2003), O grão-de-bico é sensível a temperaturas abaixo de 15 °C, principalmente durante a fase de florescimento. Comparativamente, em condições de cerrado e cultivo sequeiro, os resultados obtidos neste trabalho são inferiores aos relatados por Moreira, (2020), porém, superiores aos descritos por Artiaga et al., (2015), para a mesma época de plantio.

A produtividade é influenciada por fatores como manejo da área, qualidade da semente, densidade de plantio, tratos culturais, entre outros. Práticas de cultivo adequadas como o preparo correto do solo, adubação, uso de sementes com boa procedência e plantas adaptadas às condições de cultivo, são responsáveis por promover incremento na produção de grão-de-bico, mesmo em condições de sequeiro. Como o observado por Khan et al., (2003), que adotando práticas de cultivo ideais para a cultura, observou incremento de 27% na produtividade, em relação ao plantio sem os devidos cuidados referidos acima.

Na eficiência do uso da água na produtividade houve a formação de três grupos com médias entre os tratamentos variando de 0,32 a 8,33 kg/ha<sup>-1</sup>/mm, apresentando média geral de 3,21 kg/ha<sup>-1</sup>/mm. Dos 41 tratamentos, 19 apresentaram maior eficiência do uso da água na produtividade (p<0,05, letra 'a' na coluna) (**tabela 4**). Apesar de não haver diferença estatística dentro deste grupo, os tratamentos que apresentaram maiores médias foram FLIP10-348 (8,33 kg/ha<sup>-1</sup>/mm), FLIP11-203 (8,12 kg/ha<sup>-1</sup>/mm) e FLIP10-362 (6,76 kg/ha<sup>-1</sup>/mm). Outros 12 tratamentos apresentaram eficiência intermediária do uso da água na produtividade (p<0,05, letra 'b' na coluna) (**tabela 4**), com médias entre 1,55 e 3,14 kg/ha<sup>-1</sup>/mm. O terceiro grupo composto por 7 genótipos, o teste suscetível (ILC 3279) e os cultivares BRS Aleppo e BRS Kalifa apresentaram as menores médias de eficiência (p<0,05, letra 'c' na coluna) (**tabela 4**). A média geral observada neste trabalho para esta característica, é inferior a relatada por Anwar; Mckenzie; Hill, (2000) de 12,7 kg/ha<sup>-1</sup>/mm em plantio com suplementação de irrigação.

Entretanto, está de acordo com o observado por Zhang et al., (2000), que ao estudar a eficiência do uso da água por lentilha e grão-de-bico por um período de 4 anos, observou média de produção de 3,2 kg/ha<sup>-1</sup>/mm.

A eficiência trata da razão entre o produto obtido e o recurso investido. Para Blum, (2005), a eficiência do uso da água é uma importante característica genética capaz de melhorar o desempenho da cultura em condições de estresse hídrico, e de promover incremento de produção em condições ideais de cultivo. Plantas suscetíveis à seca tendem a utilizar mais água na fase vegetativa, enquanto plantas tolerantes economizam água na fase vegetativa e investem maior quantidade na fase reprodutiva (ZAMAN-ALLAH; JENKINSON; VADEZ, 2011). A seleção de materiais com base nesta característica é uma alternativa promissora a ser explorada pelos programas de melhoramento. De acordo Kaloki; Trethowan; Tan, (2019), A herdabilidade para esta característica em condições de sequeiro é de 71,3%.

Para a produção de matéria seca, o teste suscetível (ILC 3279), os cultivares comerciais BRS Cristalino, BRS Kalifa, Jamu e, outros 16 genótipos apresentaram médias superiores aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (**tabela 4**).

A cultivar BRS Cristalino, o teste suscetível e outros 17 genótipos mostraram-se mais eficientes na produção de matéria seca por mm de água aplicado ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (**tabela 4**), com valores variando de 11,31 kg/ha<sup>-1</sup>/mm (FLIP11-97) a 20,25 kg/ha<sup>-1</sup>/mm (FLIP10-348). Os demais tratamentos apresentaram baixa eficiência ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (**tabela 4**). A média geral entre os tratamentos foi de 10,46 kg/ha<sup>-1</sup>/mm, resultado superior ao relatado por Zhang et al., (2000) de 8,7 kg/ha<sup>-1</sup>/mm. Tratamentos como o teste suscetível (ILC 3279) e os genótipos FLIP11-97, FLIP11-224, apresentaram alta eficiência na produção de matéria seca, porém baixa produtividade, indicando que estes tratamentos se ajustaram a condição de estresse e direcionaram a maior parte da energia e da água absorvida do solo, para manter processos vitais à sobrevivência e desenvolvimento vegetativo, e pouca energia a produção de sementes.

Para a característica dias para floração, houve variação de 33 a 71 dias (**tabela 4**). A cultivar comercial Jamu foi caracterizada como a mais precoce, apresentando 50% do florescimento em média 33 dias após a semeadura ( $p < 0,05$ , letra 'i' na coluna) (**tabela 4**). Seguida do cultivar Cícero, apresentando 50% de florescimento em média 39 dias após a semeadura ( $p < 0,05$ , letra 'h' na coluna) (**tabela 4**). 5 genótipos e as cultivares BRS Toro e BRS Aleppo atingiram o mesmo nível de floração entre 47 a 49 dias após o plantio ( $p < 0,05$ , letra 'g' na coluna) (**tabela 4**). Outros grupos formados foram com 13 tratamentos e duas cultivares

comerciais apresentando de 51 a 53 dias para a floração ( $p < 0,05$ , letra 'f' na coluna) (**tabela 4**), 4 tratamentos com 53 a 54 dias ( $p < 0,05$ , letra 'e' na coluna) (**tabela 4**), 7 tratamentos de 55 a 56 dias ( $p < 0,05$ , letra 'd' na coluna) e 4 tratamentos de 57 a 60 dias ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (**tabela 4**). O teste suscetível ILC 3279 e o genótipo FLIP10-346 foram os tratamentos mais tardios apresentando 50% de floração aos 71 e 62 dias após a semeadura, respectivamente.

Os dias para o florescimento aqui relatados, estão de acordo com o observado por Artiaga et al., (2015), que em condições de cerrado e sequeiro para a mesma época de plantio, observou variação de 38 a 68 dias para 50% de florescimento. Utilizando os mesmos tratamentos deste trabalho, Moreira, (2020) observou menor variação de dias para o florescimento, de 38 a 59 dias.

É importante ressaltar que apesar de a cultivar comercial Jamu se destacar como a mais precoce em floração, esta sofreu menor nível de estresse hídrico, tendo em vista que o corte da irrigação suplementar foi feito 30 dias após a semeadura e o estágio de floração aqui relatado, ocorreu 33 dias após o plantio. O mesmo ocorreu para a cultivar Cícero. Para ambas cultivares a umidade presente no solo até o referido estágio foi de aproximadamente 26,98% (**figura 3**). Os tratamentos que apresentaram 50% de florescimento a partir de 40 dias após o plantio, sofreram moires níveis de estresse hídrico, visto que a umidade do solo foi diminuindo gradativamente ao longo das semanas de monitoramento, chegando ao nível final de 17% de umidade gravimétrica (**figura 3**) e 18% de umidade volumétrica (**figura 4**). Durante o período de irrigação suplementar as umidades gravimétricas e volumétricas do solo chegaram a 30 e 34%, respectivamente (**figura 3 e 4**).

A característica dias para o florescimento é um importante parâmetro responsável por afetar diretamente a adaptação das culturas em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo (OR; HOVAV; ABBO, 1999). Fatores como a temperatura e o fotoperíodo também exercem grande influência no período reprodutivo do grão-de-bico (GRDC, 2018). A seleção e o desenvolvimento de cultivares de florescimento precoce é uma ótima alternativa para aumentar a produtividade do grão-de-bico em condições de estresse hídrico (MBAREK et al., 2009). Apesar da precocidade ser sugerida para a seleção de materiais tolerantes, foi observado neste trabalho que as maiores produtividades foram apresentadas em tratamentos com 33 a 59 dias para 50% do florescimento, ou seja, tratamentos com florescimento precoce e intermediário.

Houve grande variação para a característica dias até a maturação. Os intervalos de médias para os tratamentos variaram de 99 dias (Jamu) a 146 dias (ILC 3279) (**tabela 4**). A

cultivar comercial Jamu apresentou 90% de maturação de vagens em média 99 dias após a semeadura, com umidade do solo de 18,97% (**figura 3**), sendo caracterizada como a mais precoce para a característica de dias até a maturação. O segundo mais precoce foi o genótipo FLIP10-319 com média de 105 dias do plantio até o estágio de maturação referido, e a umidade do solo de 18,6% (**figura 3**). Os genótipos com maturação tardia foram ILC 3279 ( $p < 0,05$ , letra 'a' na coluna) (**tabela 4**), FLIP10-346, FLIP10-370 ( $p < 0,05$ , letra 'b' na coluna) (**tabela 4**) e FLIP10-326 ( $p < 0,05$ , letra 'c' na coluna) (**tabela 4**), com 146, 124 e 120 dias para o estágio de 90% de vagens maduras e solo apresentando umidade gravimétrica de aproximadamente 17% (**tabela 4**). A variação encontrada neste trabalho difere da relatada por MOREIRA, (2020) de 109 a 119 dias para maturação. Para Artiaga et al., (2015), o ciclo ideal da cultura para condição de sequeiro e cerrado brasileiro, é de 115 a 120 dias. Exceto o teste suscetível (ILC 3279), todos tratamentos estão dentro deste intervalo de recomendação. A maturação precoce é um mecanismo que permite o escape da seca pelas plantas (GAUR et al., 2006)

O porte da planta tem sido um parâmetro importante na seleção de plantas para programas de melhoramento vegetal. Segundo Saccardo; Calcagno, (1990), em plantio de inverno, plantas de grão-de-bico com porte ereto apresentam vantagem ao produtor, pois favorecem a mecanização. Além disso, plantas de porte ereto permitem maior densidade de plantio, e possuem maior capacidade de interceptação de raios solares, que proporcionam maior eficiência no processo fotossintético e, e permitem a cultura conseguir competir com plantas invasoras (SACCARDO; CALCAGNO, 1990). Devido à importância desta característica, a arquitetura das plantas foi catalogada para este trabalho (**tabela 5**). Dos 41 tratamentos foram observados: 11 tratamentos de porte ereto, 14 de porte semiereto, 13 de porte prostrado e 3 semiprostrado.

**Tabela 4** – Arquitetura de plantas em genótipos e cultivares comerciais de grão-de-bico utilizados no experimento

Genótipos						Teste suscetível					
Nº Denominação	Arquitetura	Nº Denominação	Arquitetura	Nº Denominação	Arquitetura	Nº	Denominação	Arquitetura			
1	FLIP10-316	P	13	FLIP10-342	P	25	FLIP11-157	P	35	ILC3279	E
2	FLIP10-319	P	14	FLIP10-346	E	26	FLIP11-161	E			
3	FLIP10-321	E	15	FLIP10-347	SE	27	FLIP11-179	P	<b>Cultivares comerciais</b>		
4	FLIP10-322	P	16	FLIP10-348	SE	28	FLIP11-182	SP	Nº	Denominação	Arquitetura
5	FLIP10-323	SE	17	FLIP10-349	P	29	FLIP11-187	SE	36	BRS TORO	P
6	FLIP10-324	E	18	FLIP10-352	P	30	FLIP11-203	SE	37	CÍCERO	P
7	FLIP10-326	SP	19	FLIP10-362	P	31	FLIP11-206	SE	38	ALEPPO	SE
8	FLIP10-327	E	20	FLIP10-370	E	32	FLIP11-207	SE	39	CRISTALINO	SP
9	FLIP10-328	SE	21	FLIP10-381	E	33	FLIP11-213	E	40	KALIFA	SE
10	FLIP10-329	SE	22	FLIP10-383	SE	34	FLIP11-224	E	41	JAMU	SE
11	FLIP10-330	E	23	FLIP11-25	SE						
12	FLIP10-341	P	24	FLIP11-97	P						

P = Prostrado, SP = Semiprostrado E = Ereto, SE = semiereto

Estatisticamente, a correlação estima o grau de relacionamento entre duas variáveis e o que elas representam. No melhoramento genético vegetal, busca-se através do estudo da correlação entre características, aumentar a eficiência na seleção. Segundo Jivani et al., (2013), é possível aumentar a eficiência da seleção em grão-de-bico, baseando-se em características de produção ou rendimento de sementes.

Considerando a característica de produtividade por hectare, verifica-se que esta apresentou correlação positiva e significativa com as características: peso por planta (0,54), número de ramos secundários (0,40), peso de vagens (0,92), peso de 100 sementes (0,34), índice de colheita (0,86), eficiência do uso da água na produtividade (1,00), matéria seca (0,54) e eficiência na produção de matéria seca (0,54) (**tabela 6**). As correlações positivas entre estas características citadas, indicam que na medida que a produtividade aumenta, as outras características respondem positivamente. Por demonstrar o mais alto grau de correlação positiva, as características eficiência no uso da água e produtividade por hectare apresentaram as mesmas correlações. Ambas as características também apresentam correlação negativa com dias para floração e dias para maturação, indicando que tratamentos mais precoces tendem a apresentar maiores produtividades por hectare.

**Tabela 5** – Coeficiente de correlação entre 14 características em diferentes genótipos e cultivares comerciais cultivados sob condição de sequeiro

	PSP	PDV_P	PDV_HA	PP	ALTV	NRP	NRS	PV	P100	IC	EWAPD	MS	EWAMS	DFLOR
PDV_P	0,89*													
PDV_HA	1,00*	0,89*												
PP	0,54*	0,75*	0,54*											
ALTV	-0,07	-0,06	-0,07	0,19										
NRP	0,27	0,12	0,27	0,17	-0,05									
NRS	0,40*	0,21	0,40*	0,31*	0,21	0,77*								
PV	0,92*	0,77*	0,92*	0,58*	-0,02	0,34*	0,49*							
P100	0,34*	0,36*	0,34*	0,02	-0,18	-0,06	-0,15	0,17						
IC	0,86*	0,78*	0,86*	0,33*	-0,31*	0,18	0,14	0,77*	0,53*					
EWAPD	1,00*	0,89*	1,00*	0,54*	-0,07	0,27	0,40*	0,92*	0,34*	0,86*				
MS	0,54*	0,75*	0,54*	1,00*	0,19	0,17	0,31*	0,58*	0,02	0,33*	0,54*			
EWAMS	0,54*	0,75*	0,54*	1,00*	0,19	0,17	0,31*	0,58*	0,02	0,33*	0,54*	1,00*		
DFLOR	-0,15	-0,26	-0,15	-0,04	0,22	0	0,21	-0,03	-0,53*	-0,42*	-0,15	-0,04	-0,04	
DMAT	-0,21	-0,22	-0,21	0,05	0,13	-0,09	0	-0,14	-0,28	-0,39*	-0,21	0,05	0,05	0,74*

\* significância a 5%

Para peso de plantas foi observada correlação positiva e significativa com as características número de ramos secundários (0,31), peso de vagem (0,58), índice de colheita (0,33), eficiência do uso da água na produtividade (0,54), matéria seca (1,00) e, eficiência do uso da água na produção de matéria seca (1,00), entretanto, apresentou correlação negativa com a característica dias para a floração (-0,04), indicando que plantas com florescimento precoce podem apresentar maior peso por planta (**tabela 6**).

O peso de 100 sementes se correlacionou de forma negativa com a característica dias para 50% da floração (-0,53), indicando que genótipos com floração precoce podem apresentar sementes maiores. O índice de colheita também apresentou correlação negativa com dias para floração (-0,42) e dias para maturação (-0,39), evidenciando que cultivares com precocidade de floração e maturação também apresentam maiores índices de colheita (**tabela 6**).

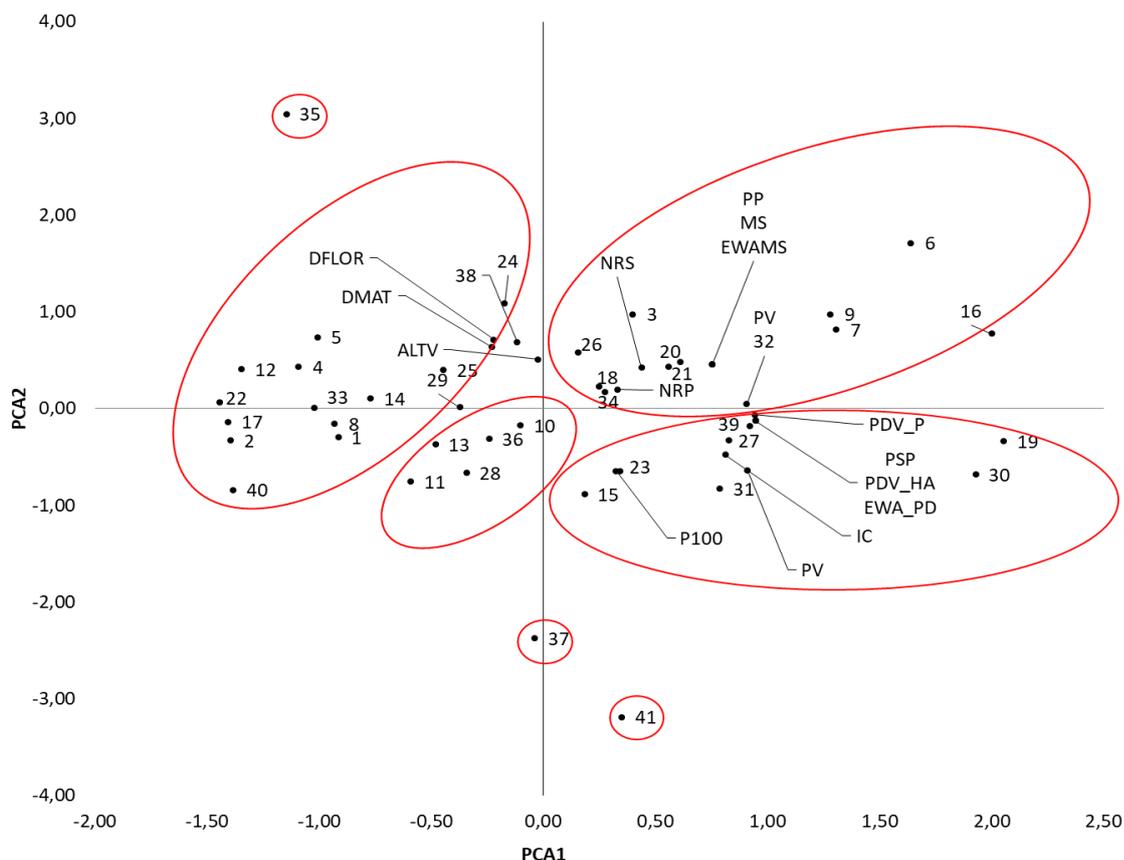
A análise dos componentes principais agrupa indivíduos de acordo sua variação, ou seja, um conjunto de variáveis são agrupados de acordo seu comportamento e variação dentro de uma população. A análise deste trabalho, demonstrou que os dois primeiros componentes principais explicaram 66,5% da variância contida nas variáveis originais. O componente principal 1 (CP1), explicou 48,44% da variação, enquanto o componente principal 2 explicou 18,1% da variância (**tabela 7**).

**Tabela 6** – Autovalores e autovetores associados aos caracteres e aos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2), estimados em grão-de-bico.

<b>Componentes principais</b>	<b>CP1</b>	<b>CP2</b>
Contribuição dos CP (%)	48,44	18,1
Contribuição acumulativa (%)	48,44	66,5
Peso de sementes por parcela	0,95	-0,12
Produtividade por planta	0,94	-0,07
Produtividade por hectare	0,95	-0,12
Peso por Planta	0,75	0,46
Altura da primeira vagem	-0,02	0,51
Número de ramos primários	0,33	0,20
Número de ramos secundários	0,44	0,42
Peso de vagens	0,91	0,04
Peso de 100 sementes	0,32	-0,64
Índice de colheita	0,81	-0,48
Eficiência do uso da água na produtividade	0,95	-0,12
Matéria Seca	0,75	0,46
Eficiência do uso da água na produção de matéria seca	0,75	0,46
Dias para floração	-0,22	0,71
Dias para maturação	-0,23	0,63

Para este trabalho, foram considerados como relevantes cargas com valor absoluto superior a 0,2. Para o componente principal 1 (CP1), todas as características contribuíram exceto, altura da primeira vagem (-0,02). As variáveis que contribuíram para a discriminação dos genótipos para o componente principal 2 (CP2), foram: peso por planta (0,46), altura da primeira vagem (0,51), número de ramos secundários (0,42), matéria seca (0,46), eficiência do uso da água na produção de matéria seca (0,46), dias para floração (0,71) e dias para maturação (0,63).

Na **figura 5** estão representados os grupos de variáveis e os autos vetores representados pelos genótipos inumerados de 1 a 41 conforme descritos na **tabela 1**.



**Figura 5** – Gráfico biplot com 15 caracteres agrônômicos e morfológicos analisados em genótipos e cultivares de grão-de-bico

As variáveis mais correlacionadas, compartilham o mesmo vetor, ou tendem a uma direção similar. A alta correlação entre as variáveis indica que em próximas seleções pode-se adotar apenas a uma das características. Tratamentos dentro dos grupos formados, se correlacionam quanto as variáveis do seu grupo. Quanto mais próximos os tratamentos, mais similares são entre si.

Sendo assim, o grupo I engloba 11 genótipos e as variáveis mais correlacionadas são peso de planta, matéria seca e eficiência no uso da água para produção de matéria seca. Para este grupo as variáveis número de ramos primários, número de ramos secundários e peso de vagem, também apresentam correlação entre si, porém, em menor grau que as que compartilham o mesmo vetor.

O grupo II, apresenta alta correlação entre as características peso de sementes por parcela, produtividade por hectare e eficiência do uso da água na produtividade. É observada

correlação também em características como índice de colheita, peso de vagem e peso de 100 sementes, porém em menor grau. Este grupo engloba 6 genótipos e uma cultivar comercial.

O grupo III engloba 13 genótipos e duas cultivares comerciais, que se correlacionam com as características dias para florescimento, dias para maturação e altura de primeira vagem. Independente da influência das variáveis, os genótipos que não se aproximam de nenhum grupo, são divergentes. Sendo assim, as cultivares Jamu, Cícero e o teste suscetível apresentam-se como os mais divergentes.

**Tabela 8** – Classificação dos tratamentos quanto a tolerância e suscetibilidade à seca

<b>Nº</b>	<b>TOLERANTES</b>	<b>Nº</b>	<b>SUSCETÍVEIS</b>
<b>3</b>	FLIP10-321	<b>1</b>	FLIP10-316
<b>6</b>	FLIP10-324	<b>2</b>	FLIP10-319
<b>7</b>	FLIP10-326	<b>4</b>	FLIP10-322
<b>9</b>	FLIP10-328	<b>5</b>	FLIP10-323
<b>10</b>	FLIP10-329	<b>8</b>	FLIP10-327
<b>15</b>	FLIP10-347	<b>11</b>	FLIP10-330
<b>16</b>	FLIP10-348	<b>12</b>	FLIP10-341
<b>18</b>	FLIP10-352	<b>13</b>	FLIP10-342
<b>19</b>	FLIP10-362	<b>14</b>	FLIP10-346
<b>20</b>	FLIP10-370	<b>17</b>	FLIP10-349
<b>21</b>	FLIP10-381	<b>22</b>	FLIP10-383
<b>23</b>	FLIP11-25	<b>24</b>	FLIP11-97
<b>27</b>	FLIP11-179	<b>25</b>	FLIP11-157
<b>30</b>	FLIP11-203	<b>26</b>	FLIP11-161
<b>31</b>	FLIP11-206	<b>28</b>	FLIP11-182
<b>32</b>	FLIP11-207	<b>29</b>	FLIP11-187
<b>37</b>	CÍCERO	<b>33</b>	FLIP11-213
<b>39</b>	BRS CRISTALINO	<b>34</b>	FLIP11-224
<b>41</b>	JAMU	<b>35</b>	ILC3279
		<b>36</b>	BRS TORO
		<b>38</b>	BRS ALEPPO
		<b>40</b>	BRS KALIFA

## 4 CONCLUSÕES

- As características morfoagronômicas e de rendimento são importantes para a precisão de seleção dos melhores materiais para programas de melhoramento para tolerância à seca em grão-de-bico.
- Para os componentes de produção sob condições de déficit hídrico, os seguintes materiais se destacaram como os mais tolerantes: FLIP10-321, FLIP10-324, FLIP10-326, FLIP10-328, FLIP10-329, FLIP10-347, FLIP10-348, FLIP10-352, FLIP10-362, FLIP10-370, FLIP10-381, FLIP11-25, FLIP11-179, FLIP11-203, FLIP11-206, FLIP11-207, Cícero, BRS Cristalino e Jamu.
- Na análise de Componentes Principais os genótipos mais divergentes foram ILC 3279, Cícero, Jamu. Estes materiais são promissores para as próximas etapas de seleção dentro e entre linhagens para o programa de melhoramento de Grão-de-bico para tolerância ao déficit hídrico.

## 5 REFERÊNCIAS

- ALVARES, Clayton Alcarde et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANWAR, M R; MCKENZIE, B A; HILL, G D. Water extraction patterns and water use efficiency of chickpea (*Cicer arietinum* L) cultivars in Canterbury. **Agronomy New Zealand, Proceedings**, v. 30, n. 30th Joint NZIAS/NZSHS Annual Conference, p. 109–120, 2000.
- ARTIAGA, Osmar Pereira et al. Avaliação de genótipos de grão-de-bico em cultivo de sequeironas condições de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 102–109, 2015.
- BASHA, S Jaffar *et al.* Estimate of growth and yield parameters of chickpea ( *Cicer arietinum* L .) cultivars amenable to mechanical harvesting. v. 7, n. 5, p. 2089–2091, 2018.
- BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential - Are they compatible, dissonant, or mutually exclusive?. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, n. 11, p. 1159–1168, 2005.
- CRUZ, C. D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Versão 1.0. Viçosa, MG: Editora UFV, 442p, 1997.
- DEVASIRVATHAM, Viola et al. Chickpea and temperature stress: An overview. *In*: AZOOZ, Mohamed Mahgoub; AHMAD, Parvaiz (org.). **Legumes under Environmental Stress: Yield, Improvement and Adaptations**. 1. ed. Hoboken: John Wiley e Sons Ltd, 2015. p. 81–90.
- DURÃES, F.O.M.; MAGALHÃES, P.C.; OLIVEIRA, A.C. Índice de Colheita Genético e as Possibilidades da Genética Fisiológica para Melhoramento do Rendimento de Milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 1, p. 33–40, 2002.
- GAUR, P M *et al.* Extra-large kabuli chickpea with high resistance to fusarium wilt. **International Chickpea and Pigeonpea Newsletter**, v. 2, n. 13, p. 5–7, 2006.
- GRDC. Chickpea Plant Growth and Physiology. *In*: GRDC (org.). **GRDC Grownotes**. 1. ed. Australian: Grains Research e Development Corporation, 2018. p. 1–21.
- JIVANI, J. V. et al. Correlation and path coefficient analysis in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 4, n. 2, p. 1167–1170, 2013.
- KALOKI, Peter; TRETOWAN, Richard; TAN, Daniel K.Y. Genetic and environmental influences on chickpea water-use efficiency. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 205, n. 5, p. 470–476, 2019.
- KHAMSSI, Nahid Niari et al. Evaluation of grain filling rate, effective grain filling period and resistance indices under acclimation to gradual water deficit stress in chickpea cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 8, p. 1044–1049, 2011.
- KHAN, Rahmat Ullah et al. Effect of Improved Practices on the Seed Yield of Chickpea under Rainfed Condition. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 11, p. 976–978, 2003.
- MADHURI, R Divya; JAYALAKSHMI, V. Identification of high yielding mechanical harvestable chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under rainfed and irrigated conditions. **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 1, p. 368–375, 2020.

MARIANO, L. A. **O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) como oportunidade de diversificação produtiva em Cristalina**. 2020. 39 f. Trabalho de conclusão de curso de graduação - UnB, Brasília-DF, 2020. Disponível em: <https://bdm.unb.br/handle/10483/30656>. Acesso em: 26 dez. 2022.

MBAREK, Kamel Ben et al. Criblage et performances agronomiques de 45 géotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) soumis à un régime hydrique limité. **Biotechnology, Agronomy and Society and Environment**, v. 13, n. 3, p. 381–393, 2009.

MINCHIN, F. R. et al. Sensitivity of chickpeas (*Cicer arietinum*) to hot temperatures during the reproductive period. **Experimental Agriculture**, v. 20, n. 1, p. 77–93, 1984.

MOREIRA, Elaine Gleice Silva. **Grão-de-bico cultivado sob condições de manejo em sequeiro e irrigado**. 2020. 81 f. Dissertação - UEG, Ipameri-GO, 2020. Disponível em: <http://www.bdt.ueg.br/handle/tede/578>. Acesso em: 18 dez. 2022.

NASCIMENTO, Warley Marcos et al. Grão-de-bico. *In*: NASCIMENTO, Warley Marcos (org.). **Hortaliças Leguminosas**. 1. ed. Brasília - DF: Embrapa, 2016. p. 89–120.

OR, E.; HOVAV, R.; ABBO, S. A major gene for time of flowering in chickpea. **Crop Science Society of America**, v. 39, n. 2, p. 315–322, 1999.

PIMENTEL-GOMES, Frederico; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

RANI, Anju et al. Developing Climate-Resilient Chickpea Involving Physiological and Molecular Approaches With a Focus on Temperature and Drought Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1–29, 2020.

SACCARDO, F; CALCAGNO, F. Consideration of chickpea plant ideotypes for spring and winter sowing. **Séminaires Méditerranéennes**, v. 9, p. 35–41, 1990.

SCHMILDT, Edilson Romais et al. Coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos de alface. **Revista Agro@Mambiente on-Line**, v. 11, n. 4, p. 290–295, 2017.

SERRAJ, R. *et al.* Variation in root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown under terminal drought. **Field Crops Research**, v. 88, n. 2–3, p. 115–127, 2004.

SOUSA, Djalma M. Gomes de; LOBATO, Edson. Calagem e adubação para culturas anuais e semiperenes. *In*: SOUSA, Djalma Martinhão Gomes de; LOBATO, Edson (org.). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2ªed. Brasília - DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 283–313.

SPEHAR, C.R; PEREIRA, E.A; SOUSA, L.A.C. Legume improvement in acidic and less fertile soils. *In*: PRATAP, A.; KUMAR, J. (org.). **Biology and breeding of food legumes**. Kanpur: CABI, 2011. p. 262–275.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAYLOR, Publisher *et al.* Low-Temperature Stress: Implications for Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Improvement. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 185–219, 2003.

VIANA, João Herbert Moreira; TEIXEIRA, Wenceslau Gerales; DONAGEMMA, Guilherme Kangussu. Umidade Atual. *In*: TEIXEIRA, Paulo César et al. (org.). **Manual de métodos de**

**análise de solo.** 3<sup>o</sup>ed. Brasília - DF: Embrapa, 2017. p. 29–31.

ZAMAN-ALLAH, Mainassara; JENKINSON, David M.; VADEZ, Vincent. Chickpea genotypes contrasting for seed yield under terminal drought stress in the field differ for traits related to the control of water use. **Functional Plant Biology**, v. 38, n. 4, p. 270–281, 2011.

ZHANG, H. et al. Water use and water-use efficiency of chickpea and lentil in a Mediterranean environment. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 51, n. 2, p. 295–304, 2000.

**CAPÍTULO II – VALIDAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES  
DERIVADOS DE GENES CANDIDATOS EM ACESSOS DE GRÃO-DE-  
BICO CONTRASTANTES PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT  
HÍDRICO**

## RESUMO

Embora o grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) apresente ampla adaptação a diferentes ambientes e padrões climáticos, reduções consideráveis na produtividade têm sido observadas em condições de déficit hídrico. Apesar de amplamente utilizada, a triagem de materiais genéticos para tolerância à seca baseada exclusivamente no fenótipo não permite a precisão necessária na seleção devido à plasticidade fenotípica inerente às plantas. Atualmente, marcadores moleculares geneticamente associados a características de interesse são essenciais para aumentar a precisão da seleção de plantas superiores em programas de melhoramento. No grão-de-bico, o desenvolvimento de marcadores moleculares de DNA foi muito favorecido após a disponibilização de três genomas completos de *C. arietinum* no “Pulse Crop database”. Nesse contexto, o objetivo inicial do presente trabalho foi amplificar via PCR e identificar polimorfismos nas sequências de genes candidatos previamente descritos em associação com tolerância à seca no genoma de seis acessos contrastantes de grão-de-bico avaliados nas condições do planalto central do Brasil. Além disso, variantes alélicas de genes relacionados à arquitetura foliar (com potencial impacto na tolerância à seca em plantas) também foram caracterizadas nesses seis materiais contrastantes de grão-de-bico. Todas as regiões genômicas foram amplificadas via PCR com os amplicons correspondentes aos tamanhos esperados. Polimorfismos em um ou mais dos seis acessos contrastantes de grão-de-bico foram observados em onze regiões genômicas: SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum* gene *Erecta*; *Cicer arietinum Erecta* Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy e o gene *Tiller angle control* (TAC). Os acessos de grão-de-bico foram agrupados de acordo com diferentes classes fenotípicas, incluindo tolerância e intolerância ao déficit hídrico, bem como arquitetura da planta expressa pela presença de acessos com folhagens eretas, semieretas ou prostradas. Polimorfismos exclusivos foram detectados para diferentes acessos e diferentes classes fenotípicas e podem ser explorados como marcadores moleculares em populações segregantes para validar a correlação com fenótipo de arquitetura vegetal e tolerância à seca.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cicer arietinum*, Marcadores moleculares, Tolerância à seca, Polimorfismos

## ABSTRACT

Although chickpea (*Cicer arietinum*) shows a wide adaptation to different environments and climate patterns, considerable yield reductions have been observed under conditions of water deficit. Despite being widely used, the screening of genetic materials for drought tolerance based exclusively on the phenotype does not allow the required precision in the selection due to the inherent phenotypic plasticity of plants. Currently, molecular markers genetically associated with traits of interest are essential to increase the accuracy of superior plant selection within breeding programs. In chickpeas, the development of DNA molecular markers has been greatly favored after the availability of three complete genomes of *Cicer arietinum* in the “Pulse Crop database”. In this context, the initial objective of the present work was to amplify via PCR and identify polymorphisms in candidate genes previously described in association with drought tolerance in the genome of six contrasting chickpea accessions evaluated in the conditions of the highland Central of Brazil. Furthermore, allelic variants of genes related to leaf architecture (with potential impact on drought tolerance in plants) were also characterized in these six contrasting chickpea materials. All genomic regions were amplified via PCR with the amplicons corresponding to the expected sizes. Polymorphisms in one or more of six contrasting chickpea accessions were noted in ten genomic regions: SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum Erecta*; *Cicer arietinum Erecta* Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy and the *Tiller angle control* (TAC) gene. Chickpea accessions were grouped according to different phenotypic classes including water deficit tolerance and intolerance as well as plant architecture expressed by the presence of accessions with erect, semi-erect or prostrate foliage. Exclusive polymorphisms were detected for the different phenotypic classes and could be explored as molecular markers in segregating populations to validate the correlation with plant architecture and drought tolerance.

**KEYWORDS:** *Cicer arietinum*, Molecular markers, Drought tolerance, Polymorphisms

## 1 INTRODUÇÃO

O grão-de-bico é a segunda leguminosa mais consumida no mundo e apresenta grande importância econômica, nutricional e social (NASCIMENTO et al., 2016). O grão-de-bico tem se destacado como uma rica fonte alternativa de proteínas dietéticas (17-22%), apresentando uma ampla possibilidade de usos para consumo *in natura* e para a produção de itens de processamento industrial. Nutricionalmente, as proteínas do grão-de-bico apresentam níveis adequados de aminoácidos essenciais e boa digestibilidade, tendo todos os atributos necessários como ingredientes funcionais (BOUKID, 2021). Em termos tecnológicos, o sabor suave e neutro e a cor clara de cultivares do tipo “Kabuli” fazem desses grãos ingredientes apropriados para o desenvolvimento de novos itens para o mercado que visa substituir produtos derivados de proteína animal (BOUKID, 2021).

Embora apresente uma ampla adaptação a diferentes ambientes e padrões climáticos, consideráveis reduções na produtividade do grão-de-bico são observadas em condições de déficit hídrico (VARSHNEY et al., 2014). Embora a seca afete a produtividade das leguminosas em todas as fases de desenvolvimento, sua ocorrência durante as fases reprodutiva e de desenvolvimento dos grãos (= “seca terminal”) é a mais crítica e costuma resultar em perdas significativas na produtividade (FAROOQ et al., 2017). A menor disponibilidade de água bem como as situações de secas transitórias são os principais fatores limitantes para a produção de leguminosas de grãos, particularmente nos trópicos áridos e semiáridos (FAROOQ et al., 2017; JHA et al., 2020). Além disso, drásticas mudanças climáticas têm sido observadas a nível global, resultando, em algumas regiões, em um incremento considerável do período de estiagem. Neste cenário, o desenvolvimento do grão-de-bico e outras leguminosas tolerantes ao déficit hídrico é uma alternativa importante para garantir a produção frente às intempéries climáticas (SIMOVA-STOILOVA et al., 2016).

A seleção de plantas tolerantes ao déficit hídrico com base no fenótipo vem sendo adotada nos programas de melhoramento genético do grão-de-bico e outras leguminosas ao longo de muitos anos (VARSHNEY et al., 2014; LATEF & AHMAD, 2015). Apesar de muito utilizada, a triagem com base no fenótipo para tolerância à seca, não permite grande precisão na seleção devido a plasticidade fenotípica inerente das plantas. Atualmente, marcadores moleculares geneticamente associados com características de interesse são imprescindíveis para aumentar a precisão dos processos de seleção de plantas dentro dos programas de melhoramento (LI et al., 2018; FONSECA & BOITEUX, 2021).

A utilização de marcadores moleculares baseados em polimorfismos no DNA foi imensamente facilitada pelo advento da técnica de amplificação por meio de enzimas termoestáveis de regiões específicas do genoma via PCR (“*Polymerase Chain Reaction*”) (AMITEYE, 2021), permitindo revelar, de forma eficaz, diferenças estruturais (polimorfismos) nos segmentos de DNA. Na circunstância em que um determinado polimorfismo se mostre geneticamente (ou fisicamente) ligado/associado a uma região genômica contendo um gene/locus que codifica uma característica de interesse ele passa a representar um potencial marcador molecular. Desta forma, marcador molecular e gene de interesse são herdados conjuntamente (COLLARD et al., 2005). Com os avanços no entendimento da genética envolvida em características quantitativas e qualitativas de interesse, o emprego de marcadores moleculares tem sido de extrema importância em esquemas de seleção assistida por marcadores (SAM) dentro dos programas de melhoramento genético de plantas, especialmente no monitoramento de características em populações segregantes ou em acessos contrastantes, facilitando a seleção de indivíduos contendo características superiores (FONSECA & BOITEUX, 2021).

A identificação de marcadores moleculares se torna ainda mais robusta se acoplada com sistemas de sequenciamento de DNA genômico (OLADOSU et al. 2019; VARSHNEY *et al.*, 2019). Em grão-de-bico, o desenvolvimento de marcadores moleculares de DNA tem sido amplamente favorecido após a disponibilização três genomas completos de *Cicer arietinum* no “Pulse Crop database” (<https://www.pulsedb.org>). Esse banco inclui também os genomas de ervilha, lentilha, feijão comum, feijão caupi e feijão guandu que podem ser empregados em estudos comparativos. Esse recurso permite identificar e/ou descobrir genes candidatos análogos a genes descritos e caracterizados em outras espécies vegetais, desenhar iniciadores (“primers”) para PCR em regiões presentes no genoma de grão-de-bico e correlacionar marcadores com fenótipos de interesse agrônomico.

Marcadores moleculares de DNA têm sido descritos em grão-de-bico em associação com o fenótipo de tolerância a seca ou com características morfológicas e fisiológicas correlacionadas tais como: altura da planta, dias para a floração, dias para maturidade, rendimento de grãos, número de vagens, porcentagem de vagens vazias, peso de grãos, número de grãos por planta (HAMWIEH et al., 2021). Estudos sobre a dissecação genética da tolerância à seca e ao calor foram conduzidos empregando 300 acessos de grão-de-bico em diferentes localidades da Índia e da África através do mapeamento por associação (GWAS) e marcadores

moleculares com significativa associação com estas características foram detectados (THUDI et al., 2014a; THUDI et al., 2014b). Um subgrupo de genes significativamente envolvidos na adaptação às condições ambientais de seca e calor foram detectados e eles representam importante informação genética visando o desenvolvimento de marcadores moleculares associados com essas características de interesse agrônômico (THUDI et al., 2014a; THUDI et al., 2014b).

A identificação de diferentes mecanismos genéticos e fisiológicos de tolerância ao déficit hídrico (atuando isoladamente ou em conjunto) pode potencializar a obtenção de plantas de grão-de-bico com esse fenótipo de interesse. Neste cenário, o objetivo inicial do presente trabalho foi amplificar via PCR e identificar polimorfismos em membros na coleção de genes candidatos descritos em associação com a tolerância à seca por THUDI et al. (2014a) no genoma de acessos de grão-de-bico avaliados nas condições do Planalto Central do Brasil. Em uma segunda etapa, os polimorfismos identificados foram validados como potenciais marcadores moleculares nas condições brasileiras empregando seis acessos de grão-de-bico contrastantes para tolerância e suscetibilidade ao déficit hídrico. Além disso, variantes alélicas de genes relacionados com a arquitetura da planta e angulação de folhas (com potencial reflexo no incremento de níveis de tolerância a seca) foram também caracterizadas nestes seis materiais contrastantes de grão-de-bico.

## 2 MATERIAL & MÉTODOS

### 2.1 Acessos de grão-de-bico

Os materiais vegetais utilizados fazem parte da coleção de acessos de grão-de-bico da Embrapa Hortaliças. Estes materiais foram submetidos à ensaios à campo para avaliação de características morfoagronômicas relacionadas à tolerância à seca (**ver Capítulo 1**). Ao total, foram selecionados seis contrastantes acessos (três tolerantes e três suscetíveis) para serem submetidos à análise molecular, sendo:

Nº Tolerantes	Nº Suscetíveis
15 FLIP10-347	26 FLIP11-161
20 FLIP10-370	35 ILC 3279
37 CÍCERO	38 BRS ALEPPO

### 2.2 Extração de DNA genômico de acessos de grão-de-bico

As plantas foram mantidas em casa de vegetação isoladas. As amostras foliares foram retiradas de plântulas com o primeiro par de folhas verdadeiras expandidas. O DNA total foi extraído individualmente de cada planta de acordo com a metodologia de CTAB 2X e solventes orgânicos com modificações (BOITEUX et al., 1999). Em cada tubo foram colocadas seis esferas metálicas, juntamente com pequena quantidade homogênea de tecido foliar. Acrescentou-se aos tubos 750 µL de CTAB e as amostras foram trituradas no Precellys®24. Após 30 segundos a 5000 rpm, as amostras foram retiradas e colocadas em banho-maria a 65°C durante 10 minutos; acrescentou-se, após esse tempo, 750 µL de clorofil em cada tubo e as amostras foram agitadas em vortex por aproximadamente 30 segundos, seguido de um ciclo de centrifugação à 9000 rpm durante 5 minutos. Cuidadosamente, os tubos foram retirados da centrífuga e 600 µL do sobrenadante foram retirados e colocados em novos tubos de micro-centrífuga. Foram acrescentados 300 µL de isopropanol gelado e com a finalidade de homogeneizar, os tubos foram suavemente agitados de forma manual e posteriormente centrifugados a 13000 rpm durante 13 minutos. O sobrenadante foi eliminado e o ‘pellet’ lavado com álcool 70%, de forma cuidadosa, para evitar a sua ressupensão. Os tubos foram então colocados em estufa a 37°C por 20 minutos e ressuspensos em 100 µL de TE+RNase, armazenando os tubos na geladeira. No dia seguinte, as amostras foram agitadas no vortex e os DNAs então extraídos foram guardados em freezer (-20°C).

### 2.3 Desenho de primers para doze regiões genômicas englobando genes candidatos para tolerância a seca

Doze regiões genômicas foram selecionadas a saber: (1) SNF1-related protein kinase; (2) aminoaldehyde dehydrogenase; (3) abscisic acid stress and ripening – ASR; (4) CAP2 (*apetala 2*) promoter; (5) Dehydrin; (6) Dehydrin responsive element binding protein; (7) *Cicer arietinum* gene *Erecta*; (8) *Cicer arietinum Erecta* Promoter; (9) Sucrose phosphate synthase – SPS; (10) Sucrose Synthase – SuSy; (11) MYB Transcription factor e (12) gene *Tiller angle control* (TAC). Uma coleção de pares ‘primers’ para PCR foi sintetizada para anelar de maneira específica com estas regiões (**Tabela 1**). Alguns desses primers amplificam regiões do genoma de grão-de-bico que se mostraram polimórficas em trabalhos previamente publicados (THUDI et al., 2014a). Um gene correspondente a um análogo do gene *Tiller angle control* (TAC) de tomateiro (GONZALES-ARCOS et al., 2019) foi detectado no cromossomo 7 (34.762.680 a 34.763.939 nucleotídeos) e pares de ‘primers’ foram desenhados para esse gene (**Tabela 1**). Um conjunto de ‘primers’ TAC foi desenhado tendo como alvo uma região do genoma de grão-de-bico de acordo com a análise do genoma de *Cicer arietinum* disponível na base de dados “Pulse Crop database” (<https://www.pulsedb.org>). Três pares de primers (denominados como TACS1, TACS2 e TACS3) foram necessários para obtenção da sequência completa do gene *Tiller angle control* (TAC) de grão-de-bico (**Tabela 1**).

### 2.4 Amplificação via PCR de segmentos de genes candidatos para tolerância a seca

Todas as os ensaios de PCR foram feitos em um volume total de 12,5 µL, sendo 1,25 µL de tampão 10X da enzima *Taq* Polymerase (100 mM Tris-HCl, pH 8,3 e 500 mM KCl, Invitrogen); 1,25 µL de dNTPs (2,5 mM, Invitrogen, preparado da seguinte maneira: 25 µL de cada base dATP, dTTP, dGTP e dCTP , totalizando 100 µL + 900 µL de TRIS 0,01M; 1,0 µL de cada primer (0,5 µL primer forward e 0,5 µL primer reverse); 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM, Invitrogen); 0,2 µL da enzima *Taq* Polimerase (5 U/µL, Invitrogen); 5,05 µL de água Milli-Q e 3 µL de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 9700 programado para 35 ciclos, sendo cada ciclo constituído pelos parâmetros definidos a seguir: etapa inicial de desnaturação a 94°C, durante 2 minutos, seguida por 35 ciclos – desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 51°C por 1 minuto, extensão a 72°C durante 1 minuto – e finalização com extensão a 68°C por 10 minutos.

### 2.5 Análise dos perfis de amplicons em géis de agarose

Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose (1%) e corados com o reagente UniSafe (UNISCIENCE). A eletroforese foi feita em tampão TBE (Tris-Borato-EDTA), a 150 V, por um período de aproximadamente 2 horas e 30 minutos. O preparo do TBE foi feito adicionando 108 g de TRIS/1L de água destilada e 55 g de ácido bórico, depois de dissolvido acrescentaram-se 40 mL de EDTA a 0,5 M. Os géis foram fotografados sob luz ultravioleta, tendo-se utilizado o marcador 1 Kb Plus DNALadder® (Invitrogen) para análise dos produtos obtidos.

## **2.6 Sequenciamento dos amplicons via Sanger**

Os amplicons obtidos foram purificados utilizando o kit Reliaprep (Promega) e sequenciados na EMBRAPA Hortaliças utilizando o reagente BigDye 3.0 (Applied Biosystems) em um ABI3130.

## **2.7 Análise das sequências**

O software SeqMan (Lasergene, Madison, WI) foi utilizado para avaliar a qualidade das sequencias obtidas e definir os “contigs” correspondentes a cada uma das regiões amplificadas (**Tabela 1**) e para cada um dos seis acessos de grão-de-bico. O alinhamento das sequencias de cada gene/segmento gênico de cada acesso foi efetuado com o auxílio do programa Geneious® 8.1.9.

**Tabela 1** – Oligonucleotídeos iniciadores (‘primers’) para amplificação das regiões genômicas potencialmente relacionadas com a tolerância ao déficit hídrico em grão-de-bico de acordo com THUDI et al (2014a) e com informações do genoma de *Cicer arietinum* no “Pulse Crop database” (<https://www.pulsedb.org>) O nome dos oligonucleotídeos são abreviaturas dos genes seguidos de F (“forward” = sentido senso da fita dupla do DNA) e R (“reverse” = sentido anti-senso da fita dupla de DNA). Dois pares de primers para o gene Sucrose synthase (SuSy 1 e SuSy 2) e três pares de primers do gene *Tiller angle control* – TAC (TACS1, TACS2 e TACS3) foram desenhados para obtenção da cópia completa destes dois genes em grão-de-bico.

Nome dos primers	Sequência (5'-3')
Abscisic acid stress and ripening – ASR Forward	GGGAACTAATCCTTTCCAAACA
Abscisic acid stress and ripening – ASR Reverse	CTGCAGCACCTAACTCACCA
CAP2 promoter Forward	TGTGCTTCAAGTTGCACTCC
CAP2 promoter Reverse	CGGGGTCCTTATATACTGCAGA
<i>Erecta</i> Promoter Forward	GTGTACAAACCTTAACAGCC
<i>Erecta</i> Promoter Reverse	CCA GTTAATTCGTTGTTTTTC
<i>Erecta</i> Gene Forward	GGTCAGCTACAGAACATAGCA
<i>Erecta</i> Gene Reverse	TCCATTTTCCATGTAGTCATAA
Sucrose synthase (SuSy) 1 Forward	GATACTGGCGGACAGGTTGT
Sucrose synthase (SuSy) 1 Reverse	CATCCTTTGCTAGGGGAACA
Sucrose synthase (SuSy) 2 Forward	GGGTCAGTCTCTGTTGATGC
Sucrose synthase (SuSy) 2 Reverse	GACGTTCACCAAAGGTCAAAA
Sucrose phosphate synthase (SPS) Reverse	TGCAGGACATGTCTCTTAGGC
Sucrose phosphate synthase (SPS) Reverse	CTGCAAATCAAAGCATCAAAA
AKIN SNF1 related protein kinase Forward	GTGGTTCAGGTGCAGACTTG
AKIN SNF1 related protein kinase Reverse	TCAGAAAGTGCCCATCACGC
Aminoaldehyde dehydrogenase Forward	TTGGAAGAAGGTTGCAGGCTAG
Aminoaldehyde dehydrogenase Reverse	CCCATTCTCCCAGTTCACGG
Dehydrin Forward	AAAGTGGTGTGGGATGACC
Dehydrin Reverse	TCCTCTCTCCCGAATTCTTG
Dehydration responsive element binding protein Forward	CTTCATTCGATCCAGATTCGG
Dehydration responsive element binding protein Reverse	AACGCGAGTTTTTCAGGCCCT
MYB transcription factor Forward	ATGCTACTGCTGCCTACAAG
MYB transcription factor Reverse	ACCGCAGTACACTCCAAGAG
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS1 Pair 1 Forward	ACACTTGTTGTTTGCCACAAAAC
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS1 Pair 1 Reverse	TGATTATTTGCTTGAAATTA
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS2 Pair 1 Forward	CATATACTCTTTTTAGATAATTG
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS2 Pair 1 Reverse	TATATATCTTGAGATCATAAGTA
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS3 Pair 1 Forward	CGACATCATTGCTCCTCCAT
<i>Tiller angle control</i> (TAC) TACS3 Pair 1 Reverse	CAAGAGGAACTTAATCCATT

**Codificação das doze regiões genômicas:** (1) SNF1-related protein kinase; (2) aminoaldehyde dehydrogenase; (3) abscisic acid stress and ripening – ASR; (4) CAP2 (*apetala 2*) promoter; (5) Dehydrin; (6) Dehydrin responsive element binding protein; (7) *Cicer arietinum* gene *Erecta*; (8) *Cicer arietinum Erecta* Promoter; (9) Sucrose phosphate synthase – SPS; (10) Sucrose Synthase – SuSy; (11) MYB Transcription factor e (12) gene *Tiller angle control* (TAC).

### 3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

A **Figura 1** mostra as análises em gel de agarose dos perfis de amplicons (com os tamanhos dentro dos valores esperados) obtidos via PCR com ‘primers’ anelando em doze regiões genômicas de acessos de grão-de-bico. Os alinhamentos dessas 12 regiões presentes no genoma de *C. arietinum* nestes seis diferentes acessos de grão-de-bico são apresentados da **Figura 2** até a **Figura 13**. Polimorfismos foram anotados para um ou mais acessos de grão-de-bico para as regiões genômicas contendo os seguintes genes/promotores: SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum Erecta*; *Cicer arietinum Erecta* Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy e o gene *Tiller angle control* (TAC). Interessante realçar que nenhum polimorfismo foi detectado no genoma de todos os seis acessos e da sequência referência para a região codante do “*Cicer arietinum* MYB Transcription fator” (**Figura 9**).

A **Figura 2** ilustra o alinhamento da “SNF1-related protein kinase” mostrando polimorfismos do tipo “Single Nucleotide Polimorphism” (SNP). Os polimorfismos do tipo SNPs foram detectados nas posições 98, 465 e 640 e ocorrem apenas nos acessos FLIP 10 e Cícero. O polimorfismo do tipo SNP na posição 698 foi detectado apenas no acesso ILC3279 que apresenta folhas eretas. As proteínas quinases são conhecidas por desempenhar papel crucial nas respostas das plantas a diferentes condições de estresse (UMEZAWA et al., 2004). Existem diversas proteínas deste grupo que atuam em diferentes etapas do desenvolvimento fenológico das plantas e em diferentes órgãos. A proteína quinase relacionada a sacarose não fermentadora 1 – SNF1 se caracteriza como fator fundamental nas vias de transdução de sinal e resposta da planta a estresse por déficit hídrico (CHEN et al., 2021). Segundo Jamsheer; Kumar; Srivastava (2021), SNF1 atua como regulador de crescimento em condições ambientais limitantes pois, apresenta uma comunicação direta com diversos mecanismos genéticos e bioquímicos, incluindo a transcrição e tradução genicas, proteínas quinases, fosfatases, entre outros.

A **Figura 3** ilustra o alinhamento da “*Cicer arietinum* aminoaldehyde dehydrogenase” (AMADH) mostrando um grande número de inserções anotadas na sequência dos amplicons obtidos na coleção de acessos, bem como deleções no gene referência depositado no GenBank. São observados SNPs em várias posições ao longo da região codante e nas cercanias do gene. O gene codificador da AMADH, tem sua função relacionada às respostas

fisiológicas e metabólicas da planta sob estresse abiótico. Trata-se de uma enzima que, em associação com a amina oxidase, participa do catabolismo de poliaminas (GOLESTAN HASHENI et al., 2018). A baixa quantidade de poliaminas em plantas está associada a alta injúria por estresse e baixo teor de água em plantas.

A **Figura 4** ilustra o alinhamento do gene “*Cicer arietinum abscisic acid stress and ripening*” (ASR), mostrando uma inserção de 34 nucleotídeos nos materiais amplificados em relação à sequência do gene de referência depositado no GenBank. Outras inserções foram anotadas nas posições 144-146, 189, 600-601. O ácido abscísico (ABA) é um fitohormônio que desempenha importante papel no desenvolvimento vegetal. Mecanismos fisiológicos vitais para a sobrevivência incluindo a capacidade da planta em perceber e desencadear respostas adaptativas em condições de estresse, são diretamente influenciados pela ação deste hormônio (ALI et al., 2020). O ABA também está envolvido na regulação da transcrição e expressão gênica em resposta a diferentes estresses. O gene ASR vem sendo relatado como induzido por ácido abscísico e responde não somente a processos de desenvolvimento da planta, como também a estresses como déficit hídrico, salino, entre outros (MASKIN et al., 2001). Plantas transgênicas de *Arabidopsis* tolerantes aos estresses salino e por seca foram obtidas via superexpressão de um alelo deste gene (YANG et al., 2005).

A **Figura 5** ilustra o alinhamento da “*Cicer arietinum CAP2 Promoter*” mostrando SNPs nas posições 2, 5, 11, 44, 251, 428, 431 e vários na região promotora do gene *apetala 2*. A região promotora de um gene é o local onde a RNA polimerase se liga para o início da transcrição gênica. Esta ligação só é possível devido a sinalização que fatores de transcrição ligados a região promotora emitem para os componentes enzimáticos. Os fatores de transcrição são responsáveis por regular positivamente (ou negativamente) a transcrição de genes por meio da ligação a elementos reguladores *cis* na região promotora de diferentes genes relacionados ao estresse (JACQUES et al., 2021). A região que corresponde ao *CAP2 promoter* é a promotora do gene *Apetala 2*, um fator de transcrição que desempenha importante papel na regulação de genes ligados ao desenvolvimento vegetal e na resposta de diferentes plantas ao estresse hídrico (JOSHI et al., 2016).

A **Figura 6** ilustra o alinhamento do gene “*Cicer arietinum Dehydrin*” revelando polimorfismos apenas no acesso FLIP11-161 (SNPs nas posições 164, 173, 308 e 334 e um InDel em 175-177). As Dehydrinas são proteínas que acumulam em resposta a estresses por baixas temperaturas ou déficit hídrico, desempenhando papel importante na proteção das células vegetais em situação de estresse. Estudos demonstram que essas proteínas estão

envolvidas nas respostas de defesa da planta à seca, como a manutenção da maquinaria fotossintética, ativação de ROS (espécies reativas a oxigênio) bem como o aumento da capacidade de retenção de água pelas plantas (RIYAZUDDIN et al., 2022).

A **Figura 7** ilustra o alinhamento da “*Cicer arietinum Dehydrin responsive element binding protein*” mostrando polimorfismos distribuídos em todos os amplicons, sendo um deles exclusivo para os acessos ‘FLIP10-370’, ‘Cícero’ e ‘BRS Aleppo’. Estes genes codificam as chamadas “proteínas de ligação a elementos responsivos a desidratação (DREBs)” que são fatores de transcrição responsáveis pela regulação de inúmeros genes de resposta ao estresse por seca e desempenham papel essencial no incremento dos níveis de tolerância a este estresse abiótico (ASATI et al., 2022). A superexpressão de AtDREB1a em de grão-de-bico gerou plantas maior tolerância das plantas em condição de estresse hídrico. (DAS, et al., 2021).

A **Figura 8** ilustra o alinhamento da região do gene “*Cicer arietinum Erecta*” mostrando polimorfismos exclusivos em dois materiais com fenótipos ereto e semiereto. Por sua vez a **Figura 9** ilustra o alinhamento da região “*Cicer arietinum Erecta Promotor*” mostrando polimorfismos exclusivos no cultivar BRS Aleppo nas posições 75, 186, 219 e 238. O gene *Erecta* está envolvido na organogênese foliar, diminuindo a densidade dos estômatos na parte inferior da folha e, reduzindo, conseqüentemente a evapotranspiração (ASATI et al., 2022). Além disso, o produto desse gene controla a transpiração através da alteração da expansão de células epidérmicas das folhas. MANDEL et al. (2014) também descreveram o envolvimento do gene *Erecta* na eficiência do uso da água

A **Figura 10** ilustra o alinhamento da região do gene “*Cicer arietinum MYB*”. Os genes MYB fazem parte de uma grande família de fatores de transcrição (TFs) envolvidos na regulação do metabolismo secundário vegetal (ASATI et al., 2022). Em condição de estresse hídrico, diferentes fatores MYBs são envolvidos na resposta de defesa da planta, ativando mecanismos como a produção de ceras para redução de perda de água pela superfície das folhas (WEI et al., 2020). No entanto, esse gene não se mostrou polimórfico nos genomas dos acessos avaliados aqui e no acesso de referência, indicando, como mencionado, que esse alelo não tem um papel relevante nos fenótipos estudados no presente trabalho. Desta forma, polimorfismos na região promotora desse gene devem ser analisadas para excluir a associação dessa região genômica com as características em estudo.

A **Figura 11** ilustra o alinhamento do gene “*Cicer arietinum Sucrose phosphate synthase – SPS*” mostrando um polimorfismo em FLIP10-370 na posição 71. O acúmulo de sacarose atua como osmoprotetor em condição de estresse hídrico, preservando as células de

lesões por desidratação. A sucrose phosphate synthase – SPS é uma enzima importante na produção de sacarose em diferentes espécies vegetais e também é responsável pela regulação do metabolismo da sacarose em plantas suscetíveis e tolerantes à seca (ASATI et al., 2022).

A **Figura 12** ilustra o alinhamento de um segmento do gene “*Cicer arietinum* Sucrose Synthase – SuSy” mostrando uma inserção em ‘Cicero’, ‘FLIP11-161’ e ‘BRS Aleppo’ na posição 680. A enzima sucrose phosphate synthase – SuSy, é responsável por hidrolisar sacarose para fornecer substrato ao metabolismo da planta (ASATI et al., 2022). Em grão-de-bico, a enzima desempenha importante papel no crescimento das sementes. Em condições de estresse hídrico verifica-se uma redução significativa da atividade da enzima e com consequente redução no tamanho das sementes (SINGH et al., 2015).

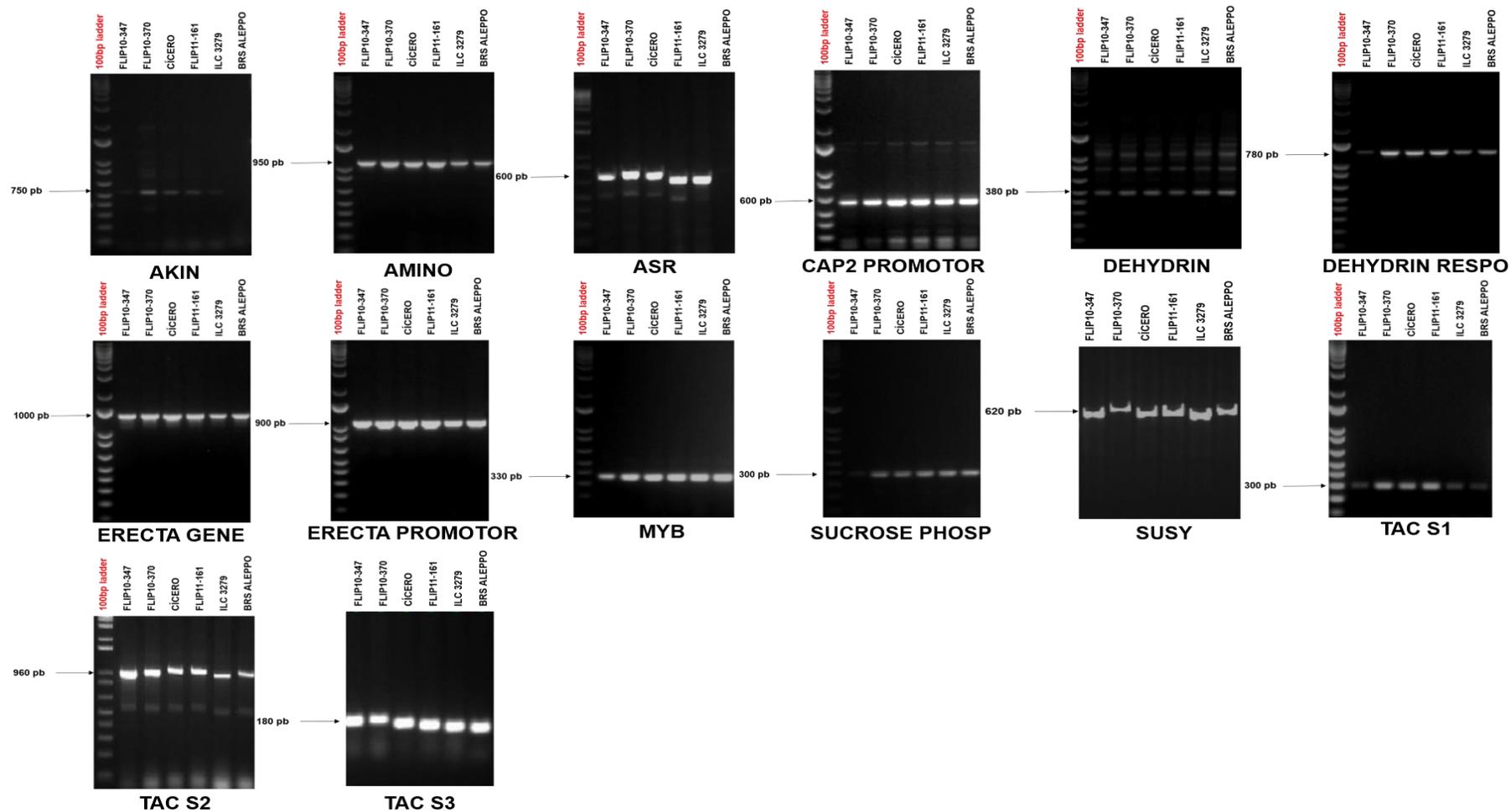
A **Figura 13** ilustra o alinhamento de um segmento do gene *Tiller Angle Control* (TAC), mostrando polimorfismos em ‘FLIP10-370’ na posição 7, ‘FLIP11-161’ em 6, 286 e 299, ‘ILC3279’ em 12 e 13, ‘Cicero’ em 849 e ‘BRS Aleppo’ em 815, 816 e 1097. A arquitetura da planta é uma característica agrônômica afetando substancialmente o rendimento de grãos, principalmente devido à sua grande influência na densidade da planta (WANG et al. 2022). Essa família de genes também pode apresentar um efeito indireto no rendimento das plantas sob estresse hídrico uma vez que o posicionamento ereto da folhagem reduz consideravelmente a incidência direta dos raios solares nos limbos foliares (GONZALES-ARCOS et al., 2019). Essa angulação foliar reduz, desta forma, os efeitos oxidativos negativos sobre a fotossíntese das plantas, especialmente nas horas mais quentes do dia quando o sol se encontra no chamado “zenith angel” (BRAGHIERE et al. 2020).

Todos os polimorfismos encontrados foram checados manualmente nos eletroferogramas para comprovar a qualidade do sequenciamento na região anotada como sendo polimórfica. As regiões de introns foram as que apresentaram maior número de polimorfismos como ilustrado na **Figura 3**. A região dos exons de Aminoaldehyde dehydrogenase se mostrou relativamente conservada entre os acessos e a região dos introns apresentou diversos InDels e SNPs (assinalado nas figuras por cores contrastantes).

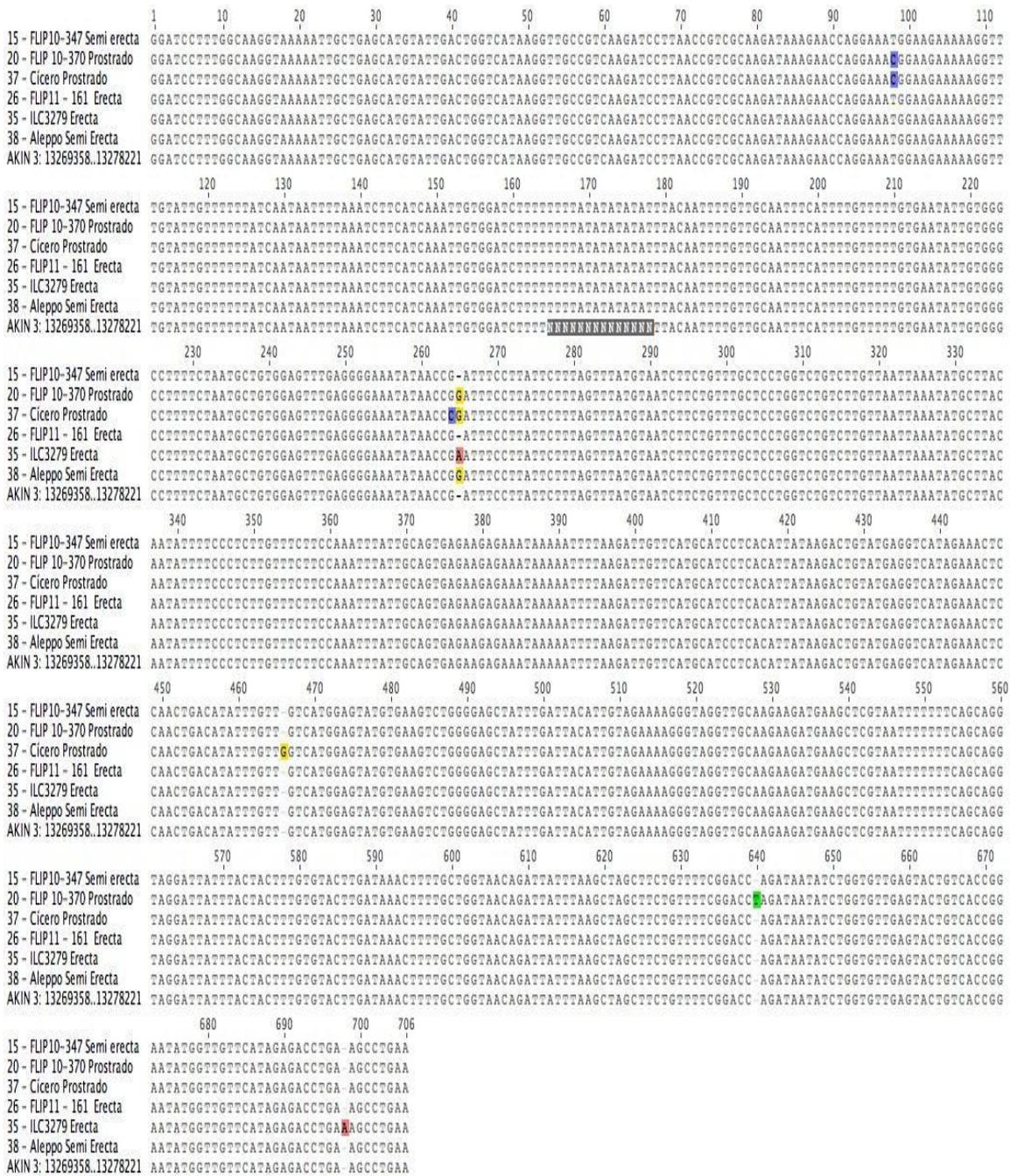
No entanto, deve-se destacar que mesmo pequenas diferenças observadas nas regiões dos exons podem ter uma correlação com o fenótipo de resistência a seca. No caso do gene ASR, três SNPs resultaram em uma mudança no código de asparagina para ácido glutâmico e de valina para lisina. Estas mudanças nos códons têm sido relacionadas com o fenótipo de tolerância como observado por Thudi et al. (2014). Estudos adicionais detalhando o impacto

dessas alterações genéticas ao nível de proteínas é uma interessante linha de pesquisa a ser conduzida.

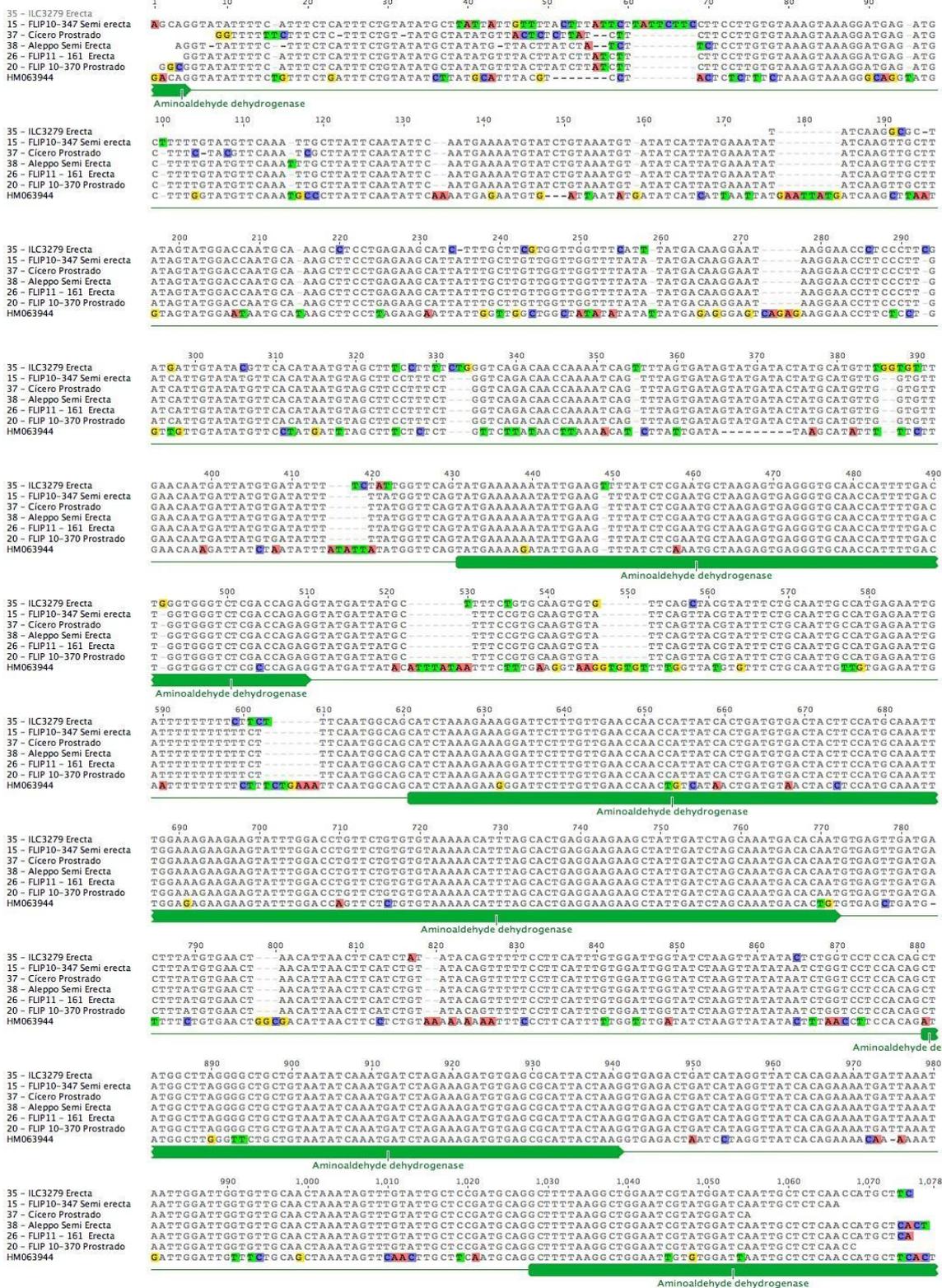
Na presente análise, os acessos de grão-de-bico foram agrupados de acordo com diferentes classes fenotípicas incluindo tolerância e intolerância ao déficit bem como a arquitetura da planta expressa pela presença acessos de folha ereta, semiereta ou prostrados. Alguns dos polimorfismos foram encontrados exclusivamente no grupo de acessos tolerantes a seca e em plantas com fenótipo folha ereta (**Tabela 2**). Esta coleção de polimorfismos poderá ser explorada em populações segregantes para validar a correlação genética com o fenótipo folha ereta e/ou com a tolerância a seca. Além disso, essa coleção de polimorfismos pode ser ampliada utilizando novos genes recentemente detectados em associação com mecanismos de adaptação de plantas a ambientes desérticos (ESHEL et al., 2021). Cruzamentos entre alguns dos seis acessos contrastantes reportados aqui já foram ou estão sendo efetuados visando a validação adicional destes marcadores em populações segregantes.



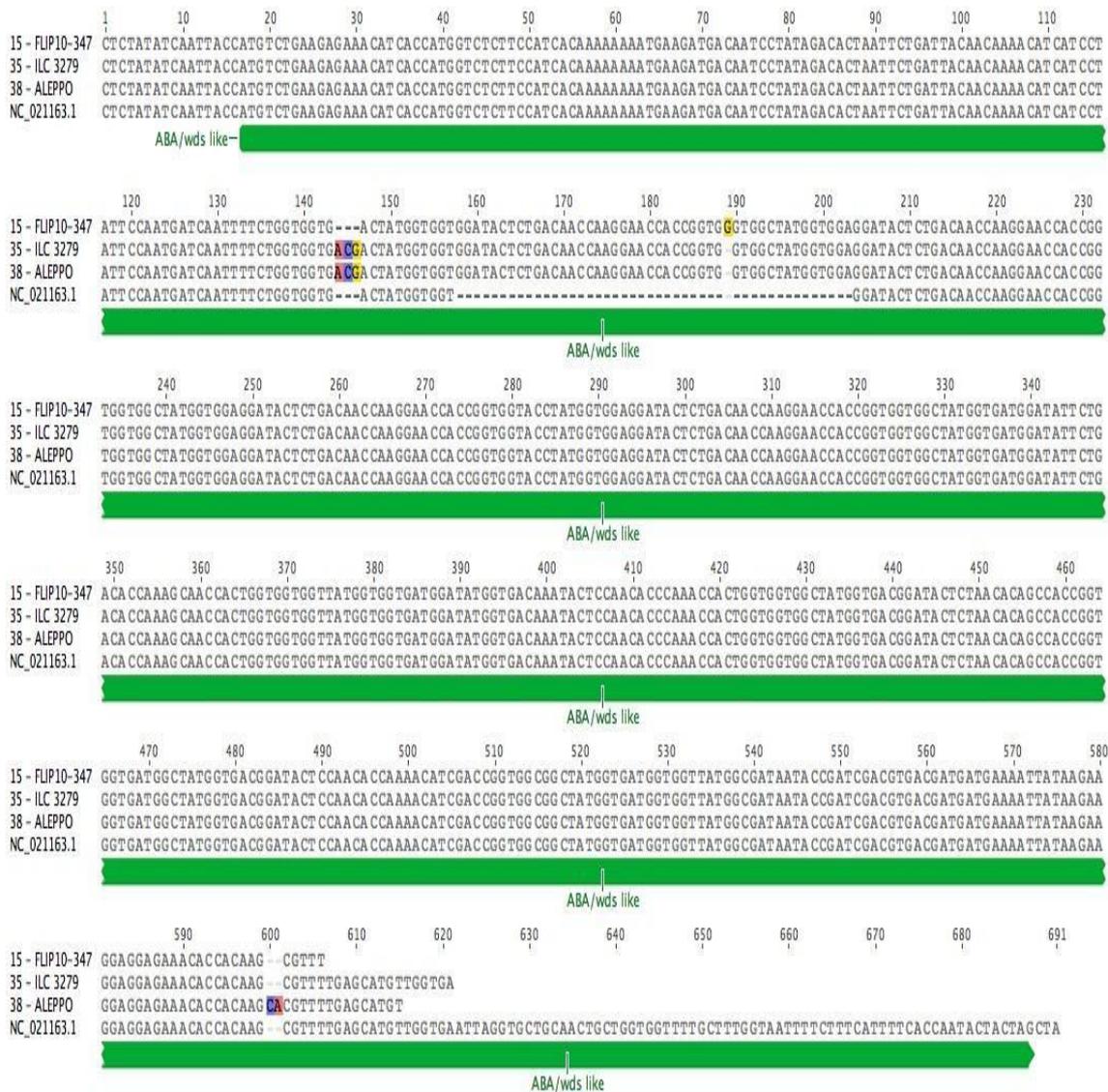
**Figura 1** – Amplificação via PCR de 14 segmentos genômicos de seis acessos de grão-de-bico (‘FLIP10-347’, ‘FLIP10-370’, ‘BRS Cicero’, ‘FLIP11-161’, ‘ILC 3279’ e ‘BRS Aleppo’), utilizando ‘primers’ específicos para cada um dos genes descritos na **Tabela 1**



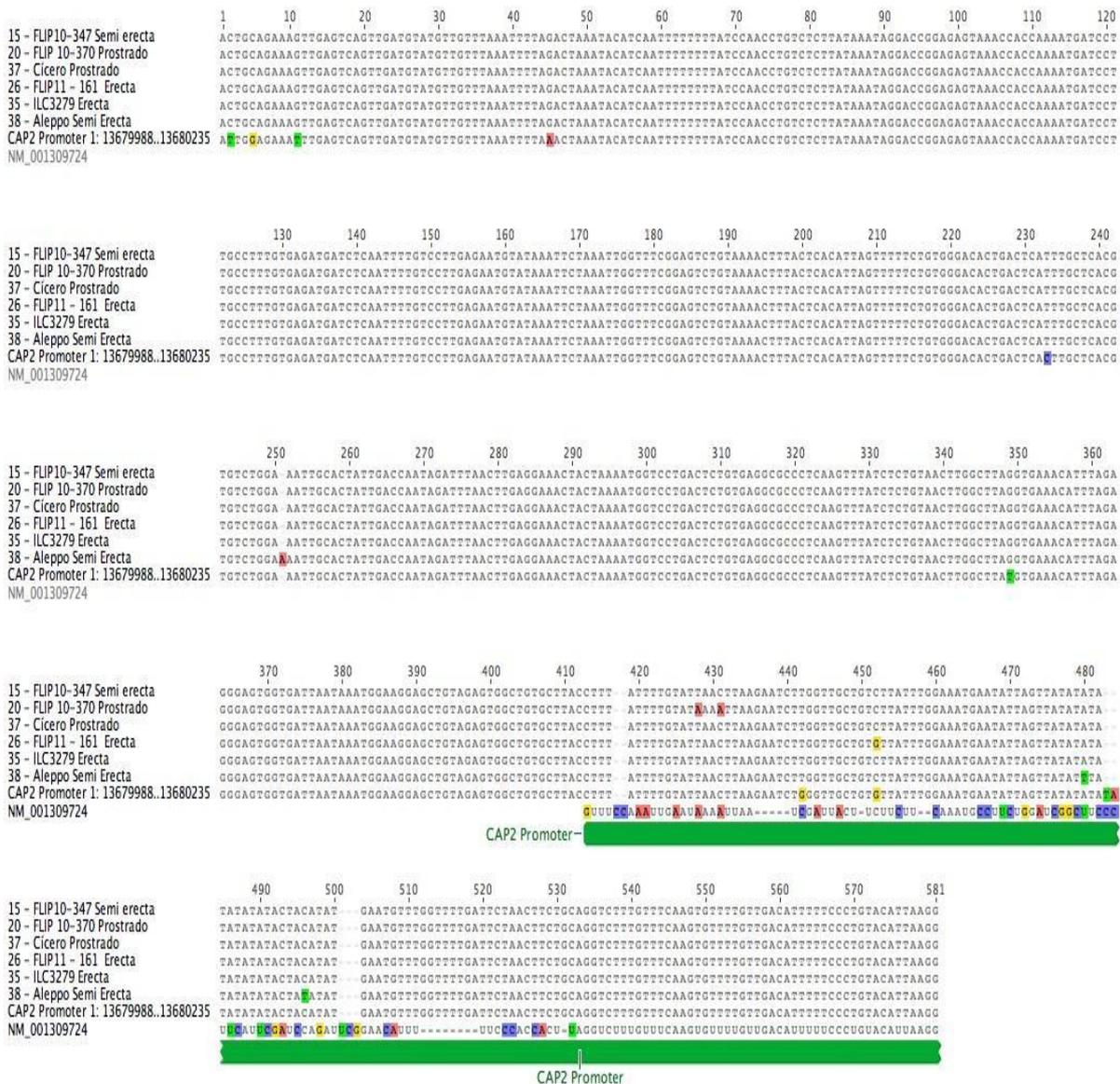
**Figura 2** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* SNF1-related protein kinase (ver Tabela 1) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico codificados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Ciceró’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



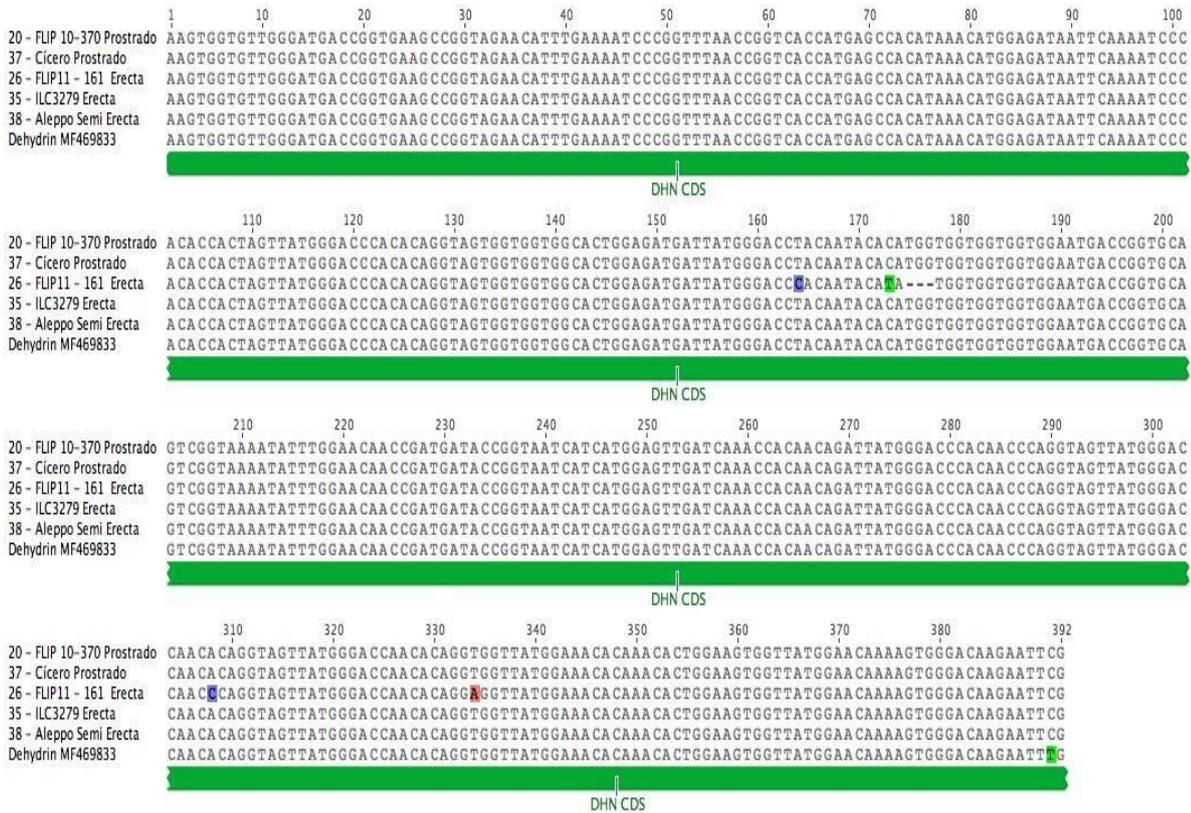
**Figura 3** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* aminoaldehyde dehydrogenase (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico codificados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



**Figura 4** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* Abscisic acid stress and ripening – ASR (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



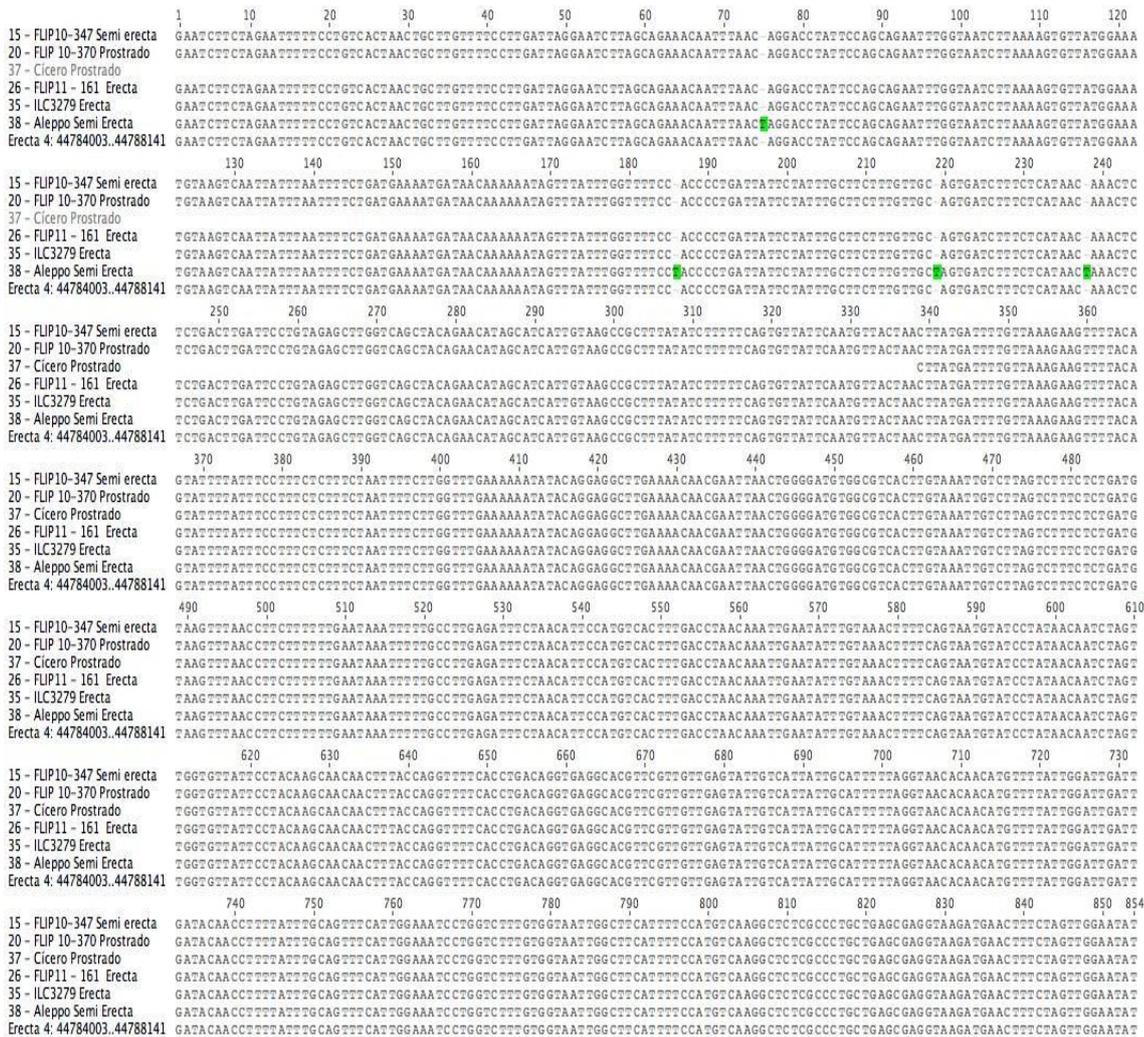
**Figura 5** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o segmento *Cicer arietinum* CAP2 Promoter (ver Tabela 1) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



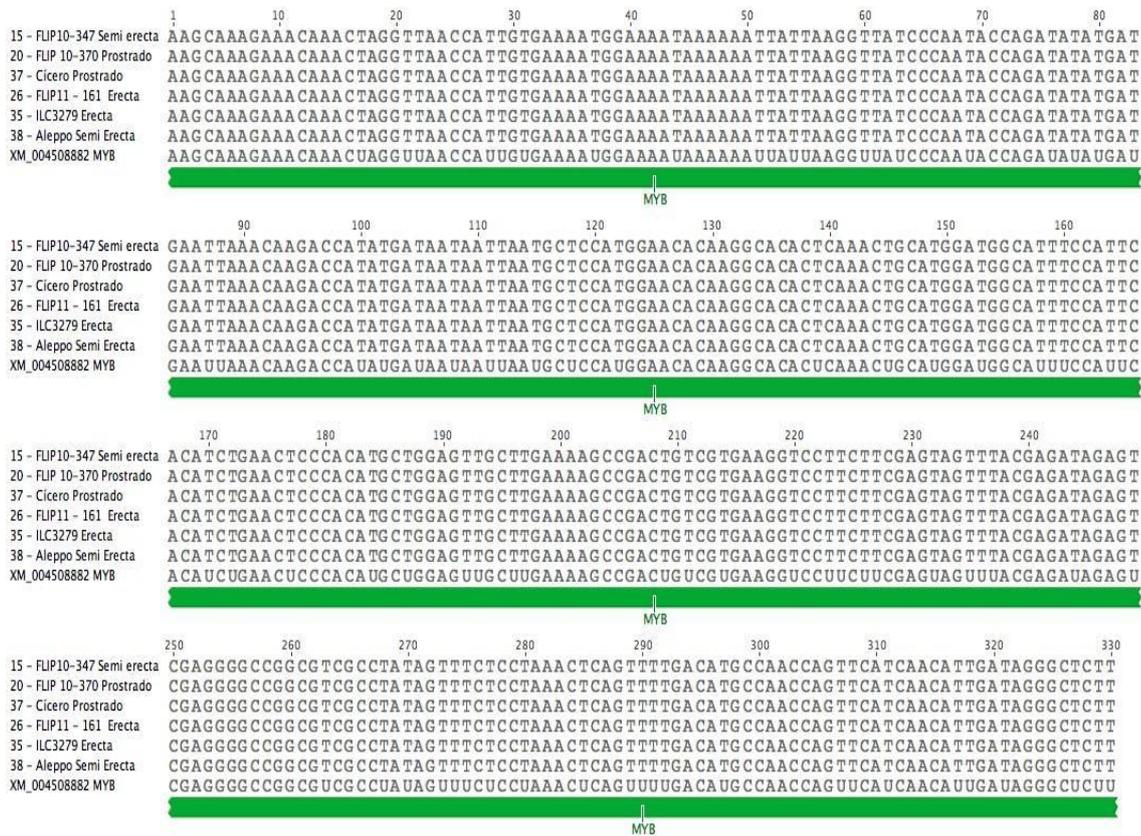
**Figura 6** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* Dehydrin (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.







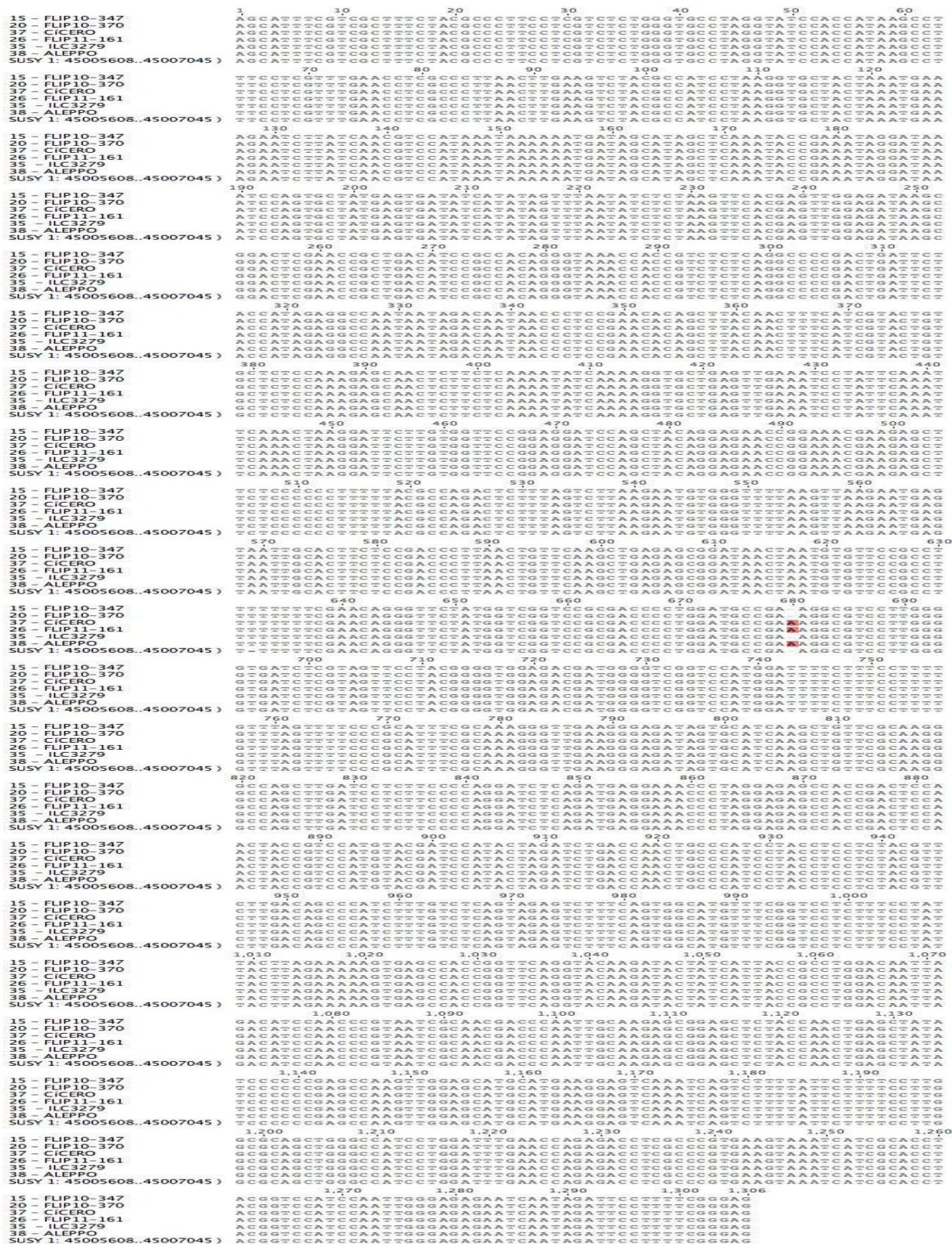
**Figura 9** – Alinhamento das seqüências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o promotor *Cicer arietinum Erecta* (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicer’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



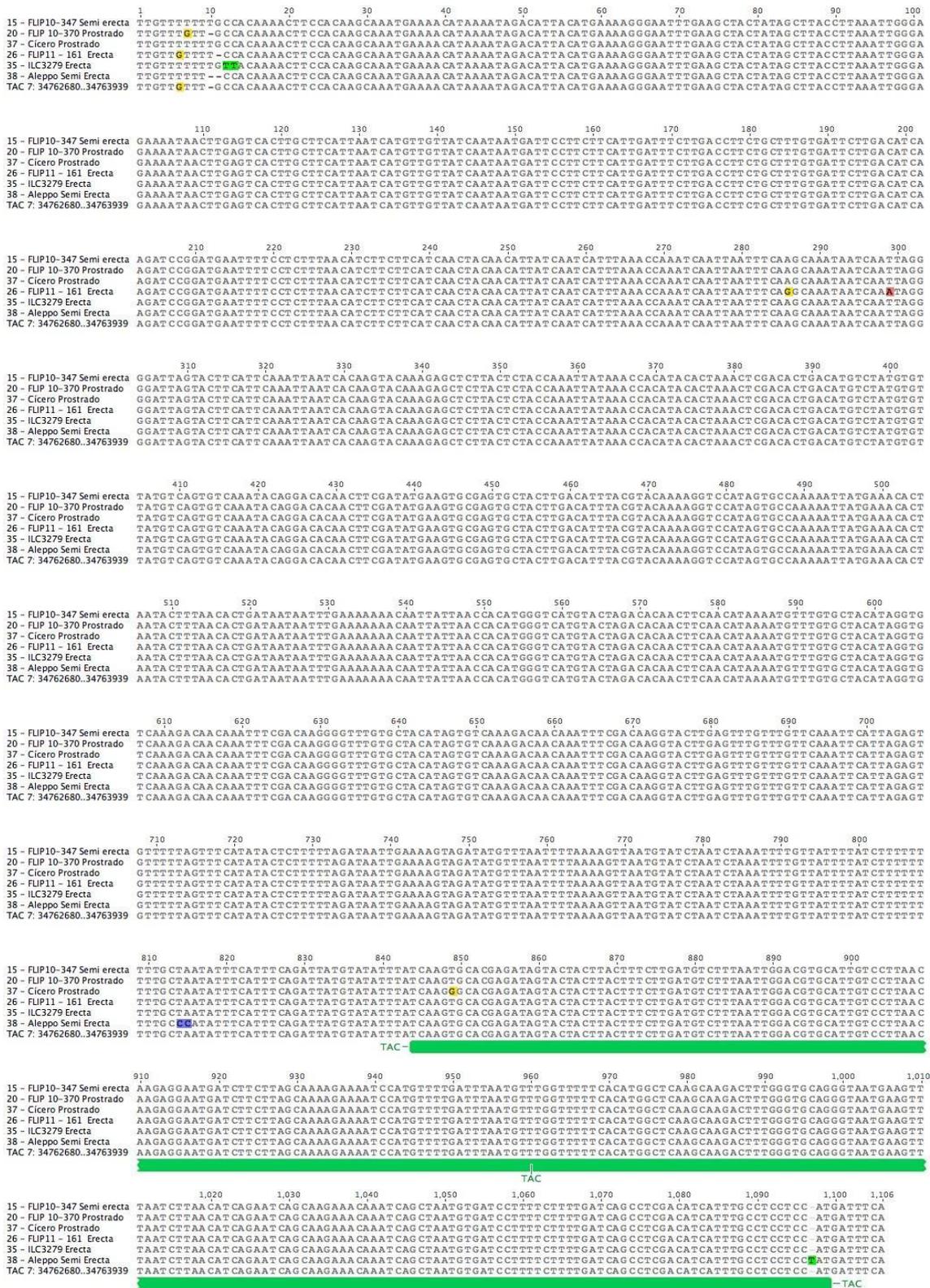
**Figura 10** – Alinhamento das sequências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* MYB Transcription factor (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



**Figura 11** – Alinhamento das sequências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* Sucrose phosphate synthase – SPS (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



**Figura 12** – Alinhamento das sequências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Cicer arietinum* Sucrose Synthase – SuSy (ver Tabela 1) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.



**Figura 13** – Alinhamento das sequências de amplicons obtidos com ‘primers’ desenhados para anelar com um segmento genômico contendo o gene *Tiller Angle Control* – TAC (ver **Tabela 1**) e DNA molde de seis acessos de grão-de-bico denominados como 15 (‘FLIP10-347’), 20 (‘FLIP10-370’), 37 (‘BRS Cicero’), 26 (‘FLIP11-161’), 35 (‘ILC 3279’) e 38 (‘BRS Aleppo’). A anotação em verde representa a região codificante do gene. Os polimorfismos encontrados estão indicados por bases coloridas.

**Tabela 2** – Análise de polimorfismos para doze regiões genômicas anotados no genoma de seis acessos de grão-de-bico (*Cicer arietinum*) contrastantes para tolerância a seca e/ou arquitetura de planta. As doze regiões genômicas investigadas foram SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (*apetala 2*) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum* ERECTA; *Cicer arietinum Erecta* Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy e o gene *Tiller angle control* (TAC). Interessante realçar que nenhum polimorfismo foi detectado no genoma de todos os seis acessos e da sequência referência para a região codante do “*Cicer arietinum* MYB Transcription fator”. Blocos vermelhos indicam a presença de um polimorfismo específico.

Polimorfismo	Gene	Posição	Tipo	Acessos tolerantes			Acessos suscetíveis		
				FLIP10-347	FLIP10-370	BRS Cicero	FLIP11-161	ILC 3279	BRS Aleppo
SNF1		98	SNP						
		264	SNP						
		466	InDel						
		640	InDel						
		697	InDel						
Aminoaldehyde dehydrogenase		449	SNP						
		492	InDel						
ASR		144-146	InDel						
		600-601	InDel						
CAP Promoter		251	InDel						
		428	SNP						
		430	SNP						
		452	SNP						
		479	SNP						
		496	SNP						
Dehydrin		164	SNP						
		173	SNP						
		174-176	INDel						
		308	SNP						
	334	SNP							
Erecta		751	InDel						
Promotor Erecta		74	InDel						
		186	SNP						
		219	SNP						
		238	SNP						
Sucrose phophase synthase		71	InDel						
SUSY		680	InDel						
TAC		848	SNP						
		1097	InDel						

## 4 CONCLUSÕES

- Apesar de amplamente utilizada, a triagem de materiais genéticos para tolerância à seca baseada exclusivamente no fenótipo não permite a precisão necessária na seleção devido à plasticidade fenotípica inerente às plantas.
- Atualmente, marcadores moleculares geneticamente associados a características de interesse são essenciais para aumentar a precisão da seleção de plantas superiores em programas de melhoramento. No presente trabalho doze regiões genômicas foram amplificadas via PCR visando identificar polimorfismos em genes candidatos previamente descritos em associação com tolerância à seca ou arquitetura foliar no genoma de seis acessos contrastantes de grão-de-bico avaliados nas condições do planalto central do Brasil.
- Todas as regiões genômicas foram amplificadas via PCR com os amplicons correspondentes aos tamanhos esperados. Polimorfismos em um ou mais dos seis acessos contrastantes de grão-de-bico foram observados em 11 das 12 regiões genômicas estudadas a saber: SNF1-related protein kinase; aminoaldehyde dehydrogenase; abscisic acid stress and ripening – ASR; CAP2 (apetala 2) promoter; Dehydrin; Dehydrin responsive element binding protein; *Cicer arietinum* ERECTA; *Cicer arietinum* ERECTA Promoter; Sucrose phosphate synthase – SPS; Sucrose Synthase – SuSy e o gene *Tiller Angle Control* (TAC).
- Polimorfismos exclusivos foram detectados no grupo de acessos tolerantes a seca e em plantas com fenótipo planta semiereta e ereta. Esta coleção de polimorfismos poderá ser adicionalmente validada em populações segregantes derivadas dos seis acessos contrastantes reportados no presente estudo.

## 5 REFERÊNCIAS

ALI S, HAYAT K, IQBAL A & XIE L (2020) Implications of abscisic acid in the drought stress tolerance of plants. **Agronomy** 10(9): 1323.

AMITEYE S (2021) Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. **Heliyon** 7 (10): e08093. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e08093.

ASATI, Ruchi et al. (2022) Molecular Breeding and Drought Tolerance in Chickpea. **Life**, v. 12, n. 11, p. 1846

BOITEUX LS, FONSECA MEN & SIMON PW (1999) Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 124: 32–38.

BOUKID F (2021) Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as a prospective plant-based ingredient: A review. **International Journal of Food Science & Technology** 56: 5435–5444.

BRAGHIERE, R. K., QUAIFFE, T., BLACK, E., RYU, Y., CHEN, Q., DE KAUWE, M. G., & BALDOCCHI, D. (2020). Influence of sun zenith angle on canopy clumping and the resulting impacts on photosynthesis. **Agricultural and Forest Meteorology** 291: 108065.

CHEN X, DING Y, YANG Y, SONG C, WANG B, YANG S, ... & GONG Z (2021) Protein kinases in plant responses to drought, salt, and cold stress. **Journal of Integrative Plant Biology** 63(1): 53–78.

COLLARD BCY, JAHUFER MZZ, BROUWER JB, et al. (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. **Euphytica** 142: 169–196.

DAS, Alok et al. (2021) Transgenic chickpea (*Cicer arietinum* L.) harbouring AtDREB1a are physiologically better adapted to water deficit. **BMC Plant Biology**, v. 21, n. 1, p. 1–17.

ESHEL G, ARAUS V, UNDURRAGA, S, SOTO, DC, MORAGA C, MONTECINOS A, ... & GUTIÉRREZ RA (2021) Plant ecological genomics at the limits of life in the Atacama Desert. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 118(46): e2101177118.

FAROOQ M, GOGOI N, BARTHAKUR S, BAROOWA B, BHARADWAJ N, ALGHAMDI SS & SIDDIQUE KH (2017) Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science** 203(2): 81–102.

FONSECA, MEN & BOITEUX LS. (2021) Biotecnologia no melhoramento genético de plantas para resistência a patógenos: Exemplos da aplicação de sistemas de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) no tomateiro (Capítulo 5). In: RIOS JA; ALMEIDA LC; SOUZA EB. (Org.). **Resistência de plantas a patógenos**. 1ª ed. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2021, v. 1, p. 121–167.

GOLESTAN-HASHEMI FS, ISMAIL MR, RAFII MY, ASLANI F, MIAH G & MUHARAM FM (2018). Critical multifunctional role of the betaine aldehyde dehydrogenase gene in plants. **Biotechnology & Biotechnological Equipment** 32(4): 815–829.

GONZÁLEZ-ARCOS M, FONSECA, MEN, ZANDONADI DB, PERES LE, ARRUBARRENA A, FERREIRA DS, ... & BOITEUX LS (2019) A loss-of-function allele of a TAC1-like gene (SITAC1) located on tomato chromosome 10 is a candidate for the *Erectoid leaf (Erl)* mutation. **Euphytica** 215: 95.

HAMWIEH A, IMTIAZ M & MALHOTRA RS (2013) Multi-environment QTL analyses for drought-related traits in a recombinant inbred population of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Theoretical and Applied Genetics** 126: 1025–1038. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-2034-0>

JACQUES C, SALON C, BARNARD RL, VERNOUD V & PRUDENT M (2021) Drought stress memory at the plant cycle level: A review. **Plants** 10(9):1873.

JAMSHEER KM, KUMAR M & SRIVASTAVA V (2021) SNF1-related protein kinase 1: the many-faced signaling hub regulating developmental plasticity in plants. **Journal of Experimental Botany** 72(17): 6042–6065.

JHA UC, BOHRA A & NAYYAR H (2020) Advances in “omics” approaches to tackle drought stress in grain legumes. **Plant Breeding** 139(1): 1–27.

JOSHI R, WANI SH, SINGH B, BOHRA A, DAR ZA, LONE AA, ... & SINGLA-PAREEK SL (2016) Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. **Frontiers in Plant Science** 7: 1029.

LATEF AAHA & AHMAD P (2015) Legumes and breeding under abiotic stress: an overview.

**Legumes under environmental stress: Yield, improvement and adaptations**, p 1–20.

LI Y, RUPERAO P, BATLEY J, EDWARDS D, KHAN T, COLMER TD, ... & SUTTON T (2018) Investigating drought tolerance in chickpea using genome-wide association mapping and genomic selection based on whole-genome resequencing data. **Frontiers in Plant Science**, v. 9: 190.

MANDEL, Tali et al. (2014) The ERECTA receptor kinase regulates Arabidopsis shoot apical meristem size, phyllotaxy and floral meristem identity. **Development (Cambridge)**, v. 141, n. 4, p. 830–841.

MASKIN, Laura et al. (2001) Differential expression of the members of the Asr gene family in tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Plant Science**, v. 161, n. 4, p. 739–746.

NASCIMENTO, WM et al. (2016) Grão-de-bico. In: NASCIMENTO WM (org.). **Hortaliças Leguminosas**. Brasília-DF: Embrapa. p. 89–120.

OLADOSU Y, RAFII MY, SAMUEL C, FATAI A, MAGAJI U, KAREEM I, ... & KOLAPO K (2019) Drought resistance in rice from conventional to molecular breeding: a review. **International Journal of Molecular Sciences** 20(14): 3519.

RIYAZUDDIN R, NISHA N, SINGH K, VERMA R & GUPTA R (2022) Involvement of dehydrin proteins in mitigating the negative effects of drought stress in plants. **Plant Cell Reports** 41(3): 519-533.

SIMOVA-STOILOVA L, VASSILEVA V & FELLER U (2016) Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: Which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture** 6(2): 26.

SINGH M, KUMAR J, SINGH S, SINGH VP & PRASAD SM (2015) Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: A review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology** 14(3): 407–426.

THUDI M, GAUR PM, KRISHNAMURTHY L, MIR, RR, KUDAPA H, FIKRE A, ... & VARSHNEY, RK (2014b) Genomics-assisted breeding for drought tolerance in chickpea. **Functional Plant Biology** 41(11): 1178–1190.

THUDI M, UPADHYAYA, HD, RATHORE A, GAUR PM, KRISHNAMURTHY L, ROORKIWAL M, ... & VARSHNEY RK (2014a) Genetic dissection of drought and heat tolerance in chickpea through genome-wide and candidate gene-based association mapping

approaches. **PLoS One** 9(5): e96758.

UMEZAWA T, YOSHIDA R, MARUYAMA K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K & SHINOZAKI K (2004) SRK2C, a SNF1-related protein kinase 2, improves drought tolerance by controlling stress-responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 101(49): 17306–17311.

VARSHNEY RK, PANDEY MK, BOHRA A, SINGH VK, THUDI M & SAXENA R K. (2019) Toward the sequence-based breeding in legumes in the post-genome sequencing era. **Theoretical and Applied Genetics** 132(3): 797–816.

VARSHNEY RK, THUDI M, NAYAK SN, GAUR PM, KASHIWAGI J, KRISHNAMURTHY L, ... & VISWANATHA KP (2014) Genetic dissection of drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Theoretical and Applied Genetics** 127: 445–462.

WANG, W., GAO, H., LIANG, Y., LI, J., & WANG, Y. (2022). Molecular basis underlying rice tiller angle: Current progress and future perspectives. *Molecular Plant*, 15(1): 125–137.

WEI, Qihui et al. (2020) Genome-wide identification of R2R3-MYB family in wheat and functional characteristics of the abiotic stress responsive gene TaMYB344. **BMC Genomics**, v. 21, n. 1, p. 1–16.

YANG, Chin Ying et al. (2005) A lily ASR protein involves abscisic acid signaling and confers drought and salt resistance in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 139, n. 2, p. 836–846.