

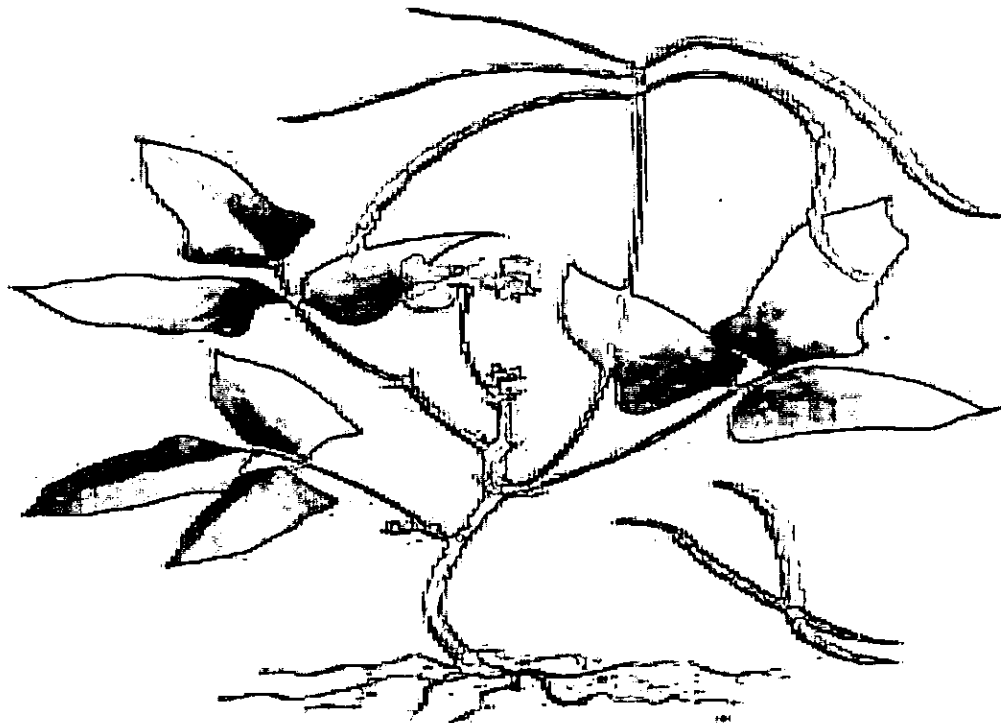
Bio-272



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TRABALHO DE CULMINAÇÃO DO CURSO**  
**(TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO)**

**“Análise do conteúdo de pigmentos fotossintéticos, prolina e proteína em três variedades de feijão-nhemba (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) sob condições de stress hídrico durante a fase vegetativa”**



**Autor: Almiro Rogério Tivane**



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TRABALHO DE CULMINAÇÃO DO CURSO**  
**(INVESTIGAÇÃO)**

**“Análise do conteúdo de pigmentos fotossintéticos, prolina e proteína em três variedades de feijão-nhemba (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) sob condições de stress hídrico durante a fase vegetativa”**

**Supervisor:**

Prof. Dr. Orlando Quilambo

**Co-Supervisora:**

dra. Célia Martins

**Autor:**

Almiro Rogério Tivane

Maputo, Dezembro de 2008

## Agradecimentos

Gostaria de endereçar o meu sincero agradecimento a todos que serviram de instrumento em todo meu percurso estudantil até a efectivação deste trabalho. É impossível mencionar todos nomes, mas reconheço e aprecio o seu contributo. Não sou de muitas palavras, pois nem existiriam palavras suficientes que expressem o quanto estou grato.

Aos supervisores, Prof. Doutor Quilambo, dra. Célia Martins, pelo unânime suporte financeiro, encorajamento, orientação e tolerância para a consistência deste trabalho;

À dra. Sónia Ventura, pelo apoio incondicional que prestou para efectividade deste trabalho;

Às Senhoras Helena e Sabina e Sr. Siteo, pelo apoio técnico e material em todas as actividades laboratoriais;

Ao engenheiro Veríssimo do IIAM pelo fornecimento do material vegetal;

Aos trabalhadores da Estufa do Departamento de Ciências Biológicas (DCB) pelo apoio que prestaram para o sucesso do trabalho da estufa .

Aos meninos Vitó, Maura e Ênia que tanto deram de si para o sucesso do trabalho da estufa. O meu obrigãdo especial;

Ao Hélio e donas Eduarda, Janete e Sandra pelo concessão dos materiais bibliográficos;

Ao Pedro Matavel, Chama e Rosalina pelo encorajamento e conselhos morais;

Aos docentes do DCB que deram tanto de si para transmissão dos seus conhecimentos;

À Sónia, Capite, Márcia, Infante e todos outros colegas do DCB pela boa convivência.

Uma especial gratidão vai ao Mugunhe, um colega sempre presente durante todo o curso;

Aos Meus irmãos (Outline, Noémia, Jaime, Mboca, Rute, Pércia, Horácio), primos (Neusa, Rodney e Paiva) e sobrinhos (Edvaldo e Rogério) e minha avó (Rute) pelo apoio e compreensão nos momentos mais difíceis da minha vida estudantil;

Dá-me imenso prazer em mencionar o meu grande amigo, Grácio Guambe, pelo que fez e continua fazendo por mim. Devo-lhe a vida inteira;

Meus tios Bunu, Sebastião e Alexandre, minhas referências na luta pela vida. Através de vós acredito na possibilidade de vencer qualquer obstáculo na vida;

À toda família que de várias formas contribuiu para a continuidade dos meus estudos;

Acima de tudo agradeço a Deus pela protecção e provisão em todas minhas necessidades.

## Dedicatória

À memória dos meus amados pais: gostaria tanto que este trabalho pousasse em primeiro nas vossas mãos, pois é fruto da vossa educação. Na pobreza em que estiveram mergulhados, tudo fizeram para que eu estudasse.

- *Constância Silva Siteo conheceu as minhas sensibilidades e fraquezas que ninguém mais soube. Nunca esqueci da leitura e escrita que me ensinou, a base do sucesso...*

- *Rogério Jaime Tivane, devia ver o resultado do tesouro (1 cabrito) que deixou para que eu continuasse a estudar...*

Dedico também aos meus irmãos, e à minha avó que apesar da idade, trata-me como um bebé que tem muito por aprender. Sua "matsavu", preparada com todo amor, fortifica a mim e aos meus irmãos.

Guardo no fundo do meu coração todos os vossos ensinamentos, e vocês são a minha fonte inesgotável de inspiração e a razão de eu continuar batalhando nesta vida

## Declaração

Declaro por minha honra que este trabalho de investigação é fruto do esforço dedicação e criatividade individuais e que nunca foi apresentado para aquisição de qualquer grau académico. A informação que nele consta reflecte os resultados obtidos.

Maputo, 11 de Dezembro de 2008

Almiro Rogério Tivane  
(Almiro Rogério Tivane)

## Resumo

O défice hídrico no solo é um dos problemas que afecta maior parte das áreas cultivadas principalmente nas regiões semi-áridas. O presente trabalho tinha como objectivo avaliar o efeito do stress hídrico sobre o teor de pigmentos fotossintéticos (clorofilas, carotenóides e feofitinas), prolina e proteínas solúveis nas folhas de três variedades de feijão-nhamba (IT82E-18, Tete-2 e Timbawene moteado). O estudo foi conduzido em condições de estufa onde 108 plantas foram submetidas a dois tratamentos; stress hídrico e controlo (condições óptimas de irrigação). Foram feitas três colheitas (quatro, sete e dez semanas depois da sementeira).

O conteúdo da clorofila *a* na variedade Timbawene moteado não foi significativamente afectado pelo stress hídrico (redução de apenas 2.7%), enquanto que as variedades Tete-2 e IT82E-18 sofreram reduções significativas (15.9% e 15.4%, respectivamente).

A variedade Timbawene moteado foi a mais afectada pelo stress hídrico, tendo sofrido reduções significativas em 14,4% ( $P=0.002$ ) e 25,6% ( $P=0.010$ ) do conteúdo de clorofila *b* na quarta e sétima em condições de stress hídrico, mas a variedade IT82E-18 sofreu uma redução de apenas 1.14% e apresentou maior conteúdo médio de clorofila *b* em relação as outras variedades para ambos tratamentos.

Quanto ao conteúdo de carotenóides, a variedades IT82E-18 foi a mais afectada pelo stress hídrico, com uma redução de 38.23%, seguida da variedade Tete-2 com uma redução de 17.28%. Todavia, a variedade Timbawene moteado apresentou uma resposta positiva ao défice hídrico, aumentando 2.9% o seu conteúdo de carotenóides.

A variedade IT82E-18 registou aumento significativo de feofitina *a* (8.8%) e feofitina *b* (24.5%) em condições de stress hídrico. No entanto, a variedade Timbawene moteado sofreu uma redução de 4.6% do teor de feofitina *a*.

Comparativamente aos seus respectivos controlos, o conteúdo de prolina aumentou em 38.9%, 38.3% e 40.5% para as variedades IT82E-18, Tete-2 e Timbawene moteado, respectivamente, em condições de stress hídrico.

Quanto ao conteúdo de proteína, o stress hídrico induziu reduções significativas para todas as variedades, tendo sofrido maior redução as variedades Timbawene moteado (32.98%) e IT82E-18 (32.8%).

**Lista de tabelas**

Tabela 1. plano semanal das colheitas.....12

Tabela 2. Efeito do stress hídrico sobre as concentrações das clorofilas *a* e *b* e carotenóides das três variedades de feijão-nhemba.....17

Tabela 3. Efeito do stress hídrico sobre as concentrações das feofitinas *a* e *b* das três variedades de feijão-nhemba.....18

**Lista de figuras**

Figura 1. Mapa do campus universitário da UEM.....9

Figura. 2. Efeito do stress hídrico no conteúdo de prolina livre das três variedades de feijão-nhemba sob condições de stress hídrico.....20

Figura 3. Efeito do stress hídrico no conteúdo de proteínas solúveis das três variedades de feijão-nhemba sob condições de stress hídrico.....21

Figura 4. Relação entre as concentrações de prolina e de proteína nas três variedades de feijão-nhemba.....22



**Lista de anexos**

Anexo 1. Características físico-químicas do solo usado na experiência.

Anexo 2. Preparação da curva de calibração para determinação da concentração da prolina.

Anexo 3. Preparação da curva de calibração para determinação da concentração protéica.

Anexo 4. Determinação do conteúdo volumétrico da água no solo.

Anexo 5. Comparações estatísticas entre os tratamentos stress e controlo: A- clorofila  $\alpha$ ; B- clorofila  $b$ ; C- carotenóides; D- feofitina  $\alpha$ ; E- feofitina  $b$ ; F- prolina; G- proteína.

Anexo 6. Análise de regressão entre conteúdo de prolina e de proteína.

## Índice

Conteúdo	pág
Agradecimentos.....	I
Dedicatória.....	II
Declaração de honra.....	III
Resumo.....	IV
Lista de tabelas.....	V
Lista de figuras.....	VI
Lista de Anexos.....	VII
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1. Stress hídrico.....	1
1.2. Feijão-nhamba [ <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.].....	3
1.3. Justificação do estudo.....	4
<b>2. Objectivos:.....</b>	<b>5</b>
2.1. Geral:.....	5
2.2. Específicos:.....	5
<b>3. Hipóteses:.....</b>	<b>5</b>
<b>4. Revisão bibliográfica.....</b>	<b>6</b>
4.1. Origem do feijão-nhamba.....	6
4.2. Morfologia e biologia.....	6
4.3. Classificação taxonómica.....	7
4.4. Importância.....	8
4.5. Produção.....	8
<b>5. Metodologia.....</b>	<b>9</b>
5.1. Área de estudo.....	9
5.2. Parte experimental.....	10
5.2.1. Material e soluções.....	10
5.2.2. Fase I: Crescimento das plantas.....	11

5.2.3. Fase II: Análises bioquímicas .....	12
5.2.3.1. Extração e determinação do conteúdo dos pigmentos fotossintéticos....	12
5.2.3.2. Extração e determinação da concentração da prolina.....	13
5.2.3.3. Extração e determinação da concentração de proteínas .....	14
A – Extração de proteína.....	14
B – Determinação da concentração de proteínas.....	14
5.3. Análise dos dados.....	15
<b>6. Resultados.....</b>	<b>16</b>
6.1. Desenvolvimento fenotípico.....	16
6.2. Pigmentos fotossintéticos .....	16
6.2.1. Clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> e carotenóides .....	16
6.2.2. Feofitinas <i>a</i> e <i>b</i> .....	18
6.3. Prolina.....	19
6.4. Proteína .....	20
6.5. Relação entre prolina e proteína.....	22
<b>7. Discussão .....</b>	<b>23</b>
7.1. Pigmentos fotossintéticos .....	23
7.1.1. Clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> e carotenóides .....	23
7.1.2. Feofitinas <i>a</i> e <i>b</i> .....	25
7.3. Prolina.....	25
7.4. Proteína .....	26
7.5. Relação entre prolina e proteína.....	27
<b>8. Conclusão.....</b>	<b>28</b>
<b>9. Recomendações .....</b>	<b>29</b>
<b>10. Bibliografia.....</b>	<b>30</b>
<b>Anexos</b>	

## 1. Introdução

### 1.1. Stress hídrico

A água, luz, CO<sub>2</sub>, temperatura, nutrientes são factores chaves para o desenvolvimento de várias espécies de plantas. Embora a água seja abundante na terra, a água doce é um recurso escasso e a água do solo disponível para as plantas representa uma grande limitação ambiental (Atwell *et al.*, 1999).

O défice de água representa um dos mais adversos factores que afecta vários processos fisiológicos que concorrem para o desenvolvimento e a produtividade das plantas (Singh & Rachie, 1985; McKersie & Leshem, 1994; Iuchi *et al.*, 1996).

O efeito de um factor de stress sobre uma planta varia durante o ciclo de vida e entre as espécies. Por exemplo; a sensibilidade ao défice hídrico diminui a medida que a planta atinge a maturidade (Nielsen & Orcutt, 1996).

O stress hídrico aumenta a degradação da clorofila, convertendo-a em feofitina e baixa a sua concentração nas folhas, o que de certa forma afecta a fotossíntese e a produtividade vegetal (Hinckley *et al.*, 1981; Hopkins & Huner, 2004). Os caratenóides, outros pigmentos importantes na fotossíntese (Raven *et al.*, 2001) como acessórios na absorção e transferência de energia radiante, e protectores da clorofila contra a foto-oxidação e fotoinibição, são também degradados (Lima *et al.*, 2004).

Muitas evidências indicam que o défice hídrico induz ao stress oxidativo nas plantas. A força redutora gerada nos cloroplastos como resultado da fixação limitada do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) causa danos celulares tais como peroxidação dos lípidos, modificação das proteínas e formação do oxigénio (O<sub>2</sub>) activo (Smallwood *et al.*, 1999; Diop *et al.*, 2004). Nielsen & Orcutt (1996) associam o stress hídrico à diminuição da síntese protéica, aumento da sua hidrólise e acumulação de aminoácidos, tais como a prolina.

Segundo Hopkins & Hüner (2004), a perda da integridade da membrana celular, estabilidade e actividade das proteínas podem ser exacerbadas por elevadas concentrações de electrólitos celulares que acompanham a desidratação do protoplasma.

Entretanto, as plantas respondem ao déficit hídrico por vários mecanismos morfo-fisiológicos (Iuchi *et al.*, 1996), que incluem a redução do ciclo reprodutivo e o fechamento dos estomas, reduzindo as taxas do uso da água e da fotossíntese (Singh & Rachie, 1985; McKersie & Leshem, 1994 e Atwell *et al.*, 1999). Algumas plantas mantêm abertos os estomas, mantendo elevada a concentração da clorofila e a área foliar durante o período de stress (Nielsen & Orcutt, 1996).

Smallwood *et al.* (1999) referem que além das respostas morfo-fisiológicas, as plantas desenvolvem respostas bioquímicas, podendo afectar o conteúdo protéico e/ou produzir complexos protéicos.

Embora a taxa de síntese de proteína baixe nas células vegetais em condições de stress hídrico, algumas proteínas são induzidas em muitas plantas (Uno *et al.*, 1996).

Uma outra resposta ao déficit hídrico, é o ajuste osmótico, pela qual os organismos mantêm a turgescência através do aumento e manutenção de concentrações elevadas de solutos compatíveis (compostos não-inibidores acumulados no citosol em resposta ao baixo potencial hídrico externo). Apesar de ser um aminoácido essencial, a prolina (um dos solutos compatíveis) é usada pelas plantas para osmorregulação e protecção dos tecidos contra o stress (Paleg *et al.*, 1985; Hare *et al.*, 1999), pois mesmo a elevadas concentrações, este aminoácido não interfere significativamente com o metabolismo normal (Wyn Jones & Gorham, 1983; Hopkins & Hüner, 2004).

Paleg *et al.* (1985) demonstraram a efectividade da prolina na estabilização e prevenção da precipitação das proteínas pelo polietileno glicol (indutor do stress hídrico rápido).

De acordo com Nielsen & Orcutt (1996), muitas características de tolerância e/ou resistência são regulados por proteínas, pois estas constituem a principal maquinaria do metabolismo celular. Em adição, as mudanças que se verificam no desenvolvimento ou no metabolismo são devido às mudanças na presença, estabilidade ou actividade das proteínas.

## 1.2. Feijão-nhemba [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

A dieta das populações de países subdesenvolvidos é baseada em grãos de cereais, tubérculos e frutos, que apesar de possuir boa quantidade de proteína, a qualidade desta deixa muito a desejar (em particular para crianças e mulheres grávidas e lactantes) (Singh & Rachie, 1985).

Em África os legumes representam uma fonte alternativa de proteína para a população. O feijão-nhemba é uma leguminosa cultivada há séculos em várias regiões, desde as semi-áridas ( precipitação de cerca de 200 mm/ano) até subhúmidas dos trópicos. Esta cultura ganhou importância na agricultura global devido a sua inerente capacidade de fixar o azoto atmosférico e alto conteúdo protéico (Diop *et al.*, 2004; Magloire, 2005), suas características adaptativas e boa capacidade de produção de grãos em condições de déficit hídrico (Singh & Rachie, 1985; Iuchi *et al.*, 1996 e Marfo *et al.*, 1997).

Em algumas regiões sub-húmidas dos trópicos, o feijão-nhemba fornece mais de metade da proteína vegetal na dieta humana, sendo de facto, fundamental ao sector mais pobre dos países em desenvolvimento das zonas tórridas como fonte de proteína (18 – 35%) bem como outros nutrientes essenciais (Singh & Rachie, 1985).

Segundo Mune Mune *et al.* (2008), o feijão-nhemba é, também uma excelente fonte de carboidratos solúveis (50 – 60%) e apreciáveis conteúdos de ferro, cálcio e vitamina A.

A proteína do feijão-nhemba é melhor do que a do feijão vulgar (*Phaseolus vulgaris*) por possuir maior quantidade de lisina, embora deficiente em aminoácidos com enxofre. A variabilidade do conteúdo protéico é influenciada pelo genótipo e factores ambientais (Singh & Rachie, 1985).

O feijão-nhemba apresenta vários mecanismos de resposta e resistência ao stress hídrico. Vários mecanismos explicam como o feijão-nhemba evita a desidratação extrema. Seus estomas são muito sensíveis ao déficit hídrico no solo, fechando-se mesmo antes que se detectam as diferenças no potencial hídrico (Hopkins & Hüner, 2004). Um outro mecanismo pelo qual o feijão-nhemba resiste ao stress hídrico no estágio vegetativo pode ser relacionado ao facto de que o potencial de água na folha não reduz muito mesmo sob seca extrema (Hall, 2004; Diallo *et al.*, 2001).

As variedades de feijão-nhemba são afectadas pela seca em vários aspectos e de maneiras diferentes. O encurtamento do ciclo reprodutivo (Singh & Rachie, 1985), é uma resposta ao stress hídrico das algumas variedades (Marfo *et al.*, 1997).

Segundo Singh & Rachie (1985), com o recente melhoramento genético, o feijão-nhemba tornou-se uma cultura atractiva com resistência a vários factores ambientais (doenças, pragas, temperatura, seca).

### 1.3. Justificação do estudo

A seca é um dos maiores constrangimentos que colocam em causa a segurança alimentar no mundo. A economia de muitos países africanos baseia-se muito em produtos agrícolas dependentes da precipitação que seriamente afectados durante os períodos de seca severa. Isto torna a seca um desastre natural em África. A fome, êxodos de animais e pessoas, doenças, mortes e muitos outros problemas sociais em África estão relacionados à seca (Magloire, 2005 citando Ogallo, 1993).

Segundo Magloire (2005), devido a insuficiência de água para irrigar todos os campos, uma das alternativas para evitar a redução significativa da produção nas regiões secas é produzir culturas e/ou variedades tolerantes ou resistentes ao défice hídrico. Contudo, entender os mecanismos de resposta do feijão-nhemba ao stress hídrico é de extrema importância para o melhoramento da sua produção e de forma que possa servir de ferramenta para as populações com elevada variabilidade genética seleccionarem as variedades de culturas mais adequadas para as áreas secas.

Moçambique (um país tropical) tem, nestes últimos anos, registado uma precipitação baixa e irregular (Siteo, 2005), as culturas (principalmente em áreas cuja irrigação depende da precipitação) estão sujeitas ao stress hídrico afectando, como já foi referido, a produtividade e qualidade nutritiva destas. Este trabalho pode ajudar no fornecimento de dados sobre o valor nutritivo e o nível de resistência ou adaptação de três variedades de feijão-nhemba cultivadas em Moçambique sob condições de stress hídrico.

## 2. Objectivos:

### 2.1. Geral:

- Avaliar o efeito do stress hídrico sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, prolina e proteínas em três variedades de feijão-nhema durante a fase vegetativa.

### 2.2. Específicos:

- Determinar o conteúdo da clorofila (*a* e *b*), feofitina (*a* e *b*), carotenóides, prolina e proteína nas folhas de três variedades de feijão-nhema em condições de stress hídrico durante fase vegetativa.
- Comparar as três variedades de feijão-nhema em termos de conteúdo de pigmentos fotossintéticos, prolina e proteína em condições de stress hídrico
- Relacionar a acumulação de prolina e o conteúdo de proteína em condições de stress hídrico

## 3. Hipóteses:

Ho: O conteúdo de clorofila não reduz significativamente nas três variedades de feijão-nhema em condições de stress hídrico.

H1: O conteúdo de clorofila reduz significativamente nas três variedades de feijão-nhema em condições de stress hídrico.

Ho: o conteúdo de prolina não aumenta significativamente nas três variedades de feijão-nhema em condições de stress hídrico.

H1: Verifica-se um aumento significativo da prolina nas três variedades de feijão-nhema em condições de stress hídrico.

Ho: O teor protéico nas três variedades de feijão-nhema não sofre reduções significativas em condições de stress hídrico, baseando-se no facto de haver maior acumulação de prolina e indução da síntese de certas proteínas em condições de stress hídrico.

H1: O teor protéico nas três variedades de feijão-nhema sofre significativas reduções em condições de stress hídrico.



## 4. Revisão bibliográfica

### 4.1. Origem do feijão-nhemba

O feijão-nhemba é uma das fontes de alimentação humana mais antiga e provavelmente usada desde os tempos Neolíticos (Summerfield *et al.*, 1974 citados por Magloire, 2005). Muitos autores apontam África como a origem do feijão-nhemba (Singh & Rachie, 1985; Iuchi *et al.*, 1996; Marfo *et al.*, 1997; Magloire, 2005).

Recentes investigações do Instituto Internacional da Agricultura Tropical (IITA) em colaboração com o Instituto de Germoplasma (CNR) Bari, Itália, indicam fortemente que a região Austral de África (incluindo Moçambique) possui uma elevada diversidade genética considerando as formas nativas de feijão-nhemba (<http://www.cowpea.org/node/19>). Outra visão é de que a região de Transval e Cidade de Cabo na África do sul (RSA) e a Swazilândia são os centros de especiação do feijão-nhemba devido a presença das variedades mais primitivas (Padulosi & Ng, 1997 citados por Magloire, 2005). Baseando se nisto, sugere-se que África Austral seja a origem do feijão-nhemba e donde as formas primitivas moveram para outras partes da África e para Ásia (Ehlers & Hall, 1997; Magloire, 2005).

### 4.2. Morfologia e biologia

O feijão-nhemba é uma erva anual, atingindo cerca de 80 cm de altura, possui uma raiz apumada e muitas raízes laterais. O crescimento varia de erecto, rastejante, trepador ou arbustivo. As folhas são alternadas e trifoliadas (sendo as primeiras duas folhas opostas) com variados tamanhos (6-16 x 4-11cm), formas (linear, lanceolada a ovada) e geralmente verde escuro. O pecíolo é 5-25 cm longo; caule estriado, liso ou com poucos pêlos e as vezes roxo; flores racemosas, produzidas em pares alternados e apenas duas por inflorescência. As flores são bem distintas, autopolonizadoras, abrem no início do dia e fecham ao meio dia. A corola pode ser branca, amarela, cor-de-rosa, azul pálido ou púrpura (Magloire, 2005).

O fruto é uma vagem de variados tamanhos, formas (erecto ou espiralado), cores (amarelo, castanho ou roxo ao amadurecer), texturas e número de sementes (8-20 por vagem). A semente varia no tamanho (2-12 mm longas), peso (5-30 g/100 sementes) e

forma (reniforme ou globular) correlacionada com a vagem. A testa da semente pode ser lisa ou rugosa; de cor branca, verde, vermelha, castanha, amarelo, preto, manchado, com hilo branco ou de várias cores rodeado por um anel escuro (Magloire, 2005).

O ciclo de vida é relativamente curto, mostrando variações extremas no início e no fim do período reprodutivo. Algumas variedades florescem em 30 dias depois da sementeira e estão prontas para colher 25 dias depois, enquanto outras levam cerca de 100 dias para florir ou 240 dias para maturação das sementes. Estas diferenças genéticas na duração do período reprodutivo são relacionadas com os hábitos de crescimento. Exemplo: certas cultivares de área foliar limitada entram em senescência 20 dias depois da floração e outras 45 dias (Singh & Rachie, 1985).

#### 4.3 Classificação taxonómica

O feijão-nhemba apresenta inúmeras variedades e subespécies resultantes da selecção artificial. Diploide com  $2n=22$  cromossomas (Ehlers & Hall, 1997; Diop *et al.*, 2004).

Todo o feijão-nhemba cultivado é agrupado dentro da *V. unguiculata*, que é subdividido em quatro subgrupos: Unguiculata, Biflora, Sesquipedalis e Textilis (Magloire, 2005; Ehlers & Hall, 1997).

Classificação científica (<http://www.nationmaster.com/encyclopedia/Cowpea>):

Reino: Plantae

Tribo: Phaseoleae

Divisão: Magnoliophyta

Subtribo: Phaseolinae

Classe: Magnoliopsida

Género: *Vigna*

Ordem: Fabales

Secção: Catiang

Família: Fabaceae

Especie: *Vigna unguiculata*

Sufamília: Faboideae

#### 4.4. Importância

O feijão-nhemba é muito importante para a subsistência de milhões de pessoas em países subdesenvolvidos dos trópicos em particular Ásia e África. É consumido de várias formas: folhas jovens (muito conhecidas como Nyangana e Musoni em Moçambique), vagens e sementes verdes são usadas como vegetais e as sementes secas são usadas em várias preparações de alimentos. Com quantidades significativas de minerais, vitaminas e um conteúdo protéico acima de 25% nas sementes e folhas jovens, o feijão-nhemba tem um impacto positivo na saúde de mulheres e crianças (Ehlers & Hall, 1997; Magloire, 2005).

Em muitos países o feijão-nhemba é usado como foragem (seca ou verde) de alta qualidade nutritiva. Acoplado com seu rápido crescimento e cobertura, é usado no controlo da erosão dos solos; o apodrecimento rápido das suas raízes e resíduos ricos em nitrogénio melhora a fertilidade e estrutura dos solos e, é também usado na rotação de culturas e como estrume verde (<http://www.cowpea.org/node/19>).

Segundo Magloire (2005), o feijão-nhemba é usado na medicina popular por algumas tribos africanas.

#### 4.5. Produção

Estatísticas fidedignas não estão disponíveis, mas baseado nos dados da FAO (*Food and Agricultural Organisation*) e IITA, estima-se que o feijão-nhemba é cultivado numa área de cerca de 14 milhões de hectares com uma produção anual de cerca de 4.5 milhões de toneladas em todo mundo. Na África, a Nigéria é o maior produtor e consumidor com cerca de 5 milhões de hectares e uma produção anual de 2.4 milhões de toneladas (Magloire, 2005).

Outros maiores produtores africanos são: na África Central e Ocidental- Níger, Mali, Burkina Faso, Senegal, Gana, Togo, Benin, Camarões, e Chad; e na África do Leste e Austral Sudão, Somália, Quênia, Malawi, Uganda, Tanzânia, Zâmbia, Zimbabwe, Botswana, RSA e Moçambique (Ehlers & Hall, 1997; Magloire, 2005).

Segundo o Instituto Nacional Estatística (2007), a produção do feijão-nhemba em Moçambique registou um aumento em 2006 até 71,170 toneladas, relativamente aos anos anteriores (2002 a 2005).

## 5. Metodologia

### 5.1. Área de estudo

A experiência compreendeu duas fases: A primeira fase de crescimento das plantas decorreu na estufa do Departamento de Ciências Biológicas no Campus principal da Universidade Eduardo Mondlane (UEM), entre Julho e Setembro; A segunda fase consistiu na análise bioquímica das amostras colectadas na estufa. Esta última fase decorreu no laboratório de Fisiologia Vegetal da FAEF (Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal) no Campus principal da UEM (Figura 1).

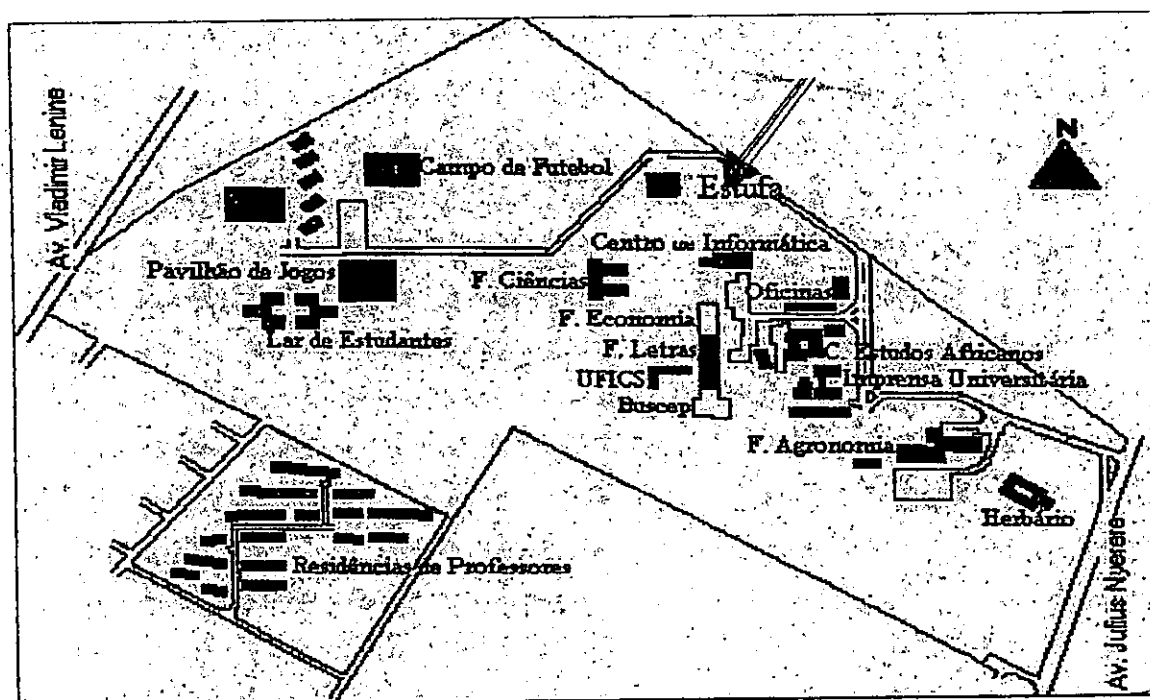


Figura 1. Mapa do campus Universitário da UEM. Fonte: [www.uem.co.mz](http://www.uem.co.mz)

## 5.2. Parte experimental

### 5.2.1. Material e soluções

#### Material

- |                         |                        |                      |
|-------------------------|------------------------|----------------------|
| ➤ Agitador              | ➤ Geleira              | ➤ Proveta de 1000 ml |
| ➤ Almofariz e pilão     | ➤ Agitador             | ➤ Quartzo            |
| ➤ Balança analítica     | ➤ Luvas                | ➤ Sacos plásticos    |
| ➤ Bomba de sucção       | ➤ Marcador             | ➤ 216 Sementes       |
| ➤ Canivete ou bisturi   | ➤ Micropipetas         | ➤ Seringa            |
| ➤ Centrifugadora        | ➤ Papel de alumínio    | ➤ Solo               |
| ➤ Cronómetro            | ➤ Papel de Wattman # 2 | ➤ Tina gelo          |
| ➤ cuvetas de vidro      | ➤ Pás pequenas         | ➤ Tubo de ensaio     |
| ➤ Espátula              | ➤ Pipetas de 10 ml     | ➤ Tubos de Eppendorf |
| ➤ Espectrofotómetro     | ➤ Placas de petri      | ➤ 108 Vasos          |
| ➤ Etiquetas de marcação | ➤ Pontas               |                      |

#### Soluções

- |  |   |
|--|---|
| ➤ Ácido glacial acético                        | ➤ HCL a 0.06 N  |
| ➤ Ácido nítrico                                | ➤ Hidróxido de sódio: NaOH  |
| ➤ Ácido Sulfosacílico, a 3%.                   | ➤ Prolina   |
| ➤ Água corrente                                | ➤ Reagente de Folin   |
| ➤ Água destilada                               | ➤ Soro bovino (BSA)   |
| ➤ Amostras protéicas                           | ➤ Sulfato de cobre: $\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$                 |
| ➤ Carbonato de sódio: $\text{Na}_2\text{CO}_3$ | ➤ Tampão de extracção   |
| ➤ Etanol a 95%                                 | ➤ Tartrato de Potássio: $\text{K}_2\text{Tartrato} \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ |
| ➤ Glicerol                                     | ➤ Tolueno   |

### 5.2.2. Fase I: Crescimento das plantas

Foram enchidos 108 vasos, de cerca de 5 litros de capacidade, com 8.4 kg de solo colhido dentro do campus universitário num local não cultivado (características do solo no Anexo 1).

As sementes das três variedades: Tete-2 e Timbawene moteado, variedades locais, e IT82E-18, uma variedade melhorada com boa performance agronómica desenvolvida pelo IITA na Nigéria (Giami, 2005), foram fornecidas pelo Banco de Germoplasma do IIAM (Instituto de Investigação Agrária de Moçambique).

Semeiou-se uma semente em cada um dos 108 vasos divididos em 36 vasos para cada variedade, submetidos a dois tratamentos (controlo e stress), correspondente à 18 vasos por tratamento.

O solo foi regado com 1.4 litros de água de modo a permitir uma distribuição regular da água pelo solo e um vaso adicional foi usado para determinação da capacidade de campo do solo (Anexo 4).

Antes da sementeira, as sementes pré-seleccionadas foram embebidas em água durante 24 horas em placas de Petri.

Para a germinação e crescimento, todos os vasos contendo as sementes foram submetidas a condições óptimas de irrigação (água corrente a 80% da capacidade de campo) de 3 em 3 dias durante duas semanas, para permitir a adaptação das plantas. Depois desse período, as plantas foram submetidas a dois tratamentos: Controlo (manteve-se as condições óptimas de irrigação de 3 em 3 dias) e Stress hídrico (água corrente até 20% da capacidade de campo, quando o conteúdo volumétrico atingisse cerca de 5%).

A irrigação determinada pelos tratamentos foi controlada através do método de pesagem e, a quantidade de água consumida era repostada de modo a manter cada tratamento com o nível de água do solo previamente estabelecido.

Quatro semanas após sementeira foi feita a primeira colheita das amostras foliares para análises bioquímicas no laboratório. A segunda e última colheitas foram feitas sete e dez semanas depois da sementeira (tabela 1).

Tabela 1: Plano semanal das colheitas

Grupos	Semanas após sementeira.	Variedade						T o t a l
		IT82-18		Timbawene moteado		Tete-2		
		Controlo	Stress	Controlo	Stress	Controlo	Stress	
A	4	6	6	6	6	6	6	36
B	7	6	6	6	6	6	6	36
C	10	6	6	6	6	6	6	36
Total		18	18	18	18	18	18	108

### 5.2.3. Fase II: Análises bioquímicas

#### 5.2.3.1. Extracção e determinação do conteúdo dos pigmentos fotossintéticos

A determinação de clorofilas, feofitinas e carotenóides nas folhas (2 ou 3 folhas jovens totalmente abertas) foi feita segundo Wintermans & De Mots (1965) citados por Nhancale (2004).

Triturou-se 100 mg de material vegetal num almofariz. Adicionou-se 10 ml de álcool a 95% para permitir melhor homogeneização. Passou-se o homogeneizado para um tubo de ensaio e deixou-se repousar no escuro durante 10 minutos. Em seguida, foi recolhido o sobrenadante e mediu-se a absorvância (A) a 665 e 649nm para quantificação das Clorofilas *a* e *b* e a 470nm para os carotenóides usando acetona a 90% como branco. Para as feofitinas *a* e *b*, 5 ml do sobrenadante foram incubados com 1 ml de HCl a 0.06 N durante 10 minutos, seguidamente leu-se a absorvância à 666 e 654nm.

As concentrações dos pigmentos, expressas em mg/g de peso fresco, foram calculadas segundo Wintermans & De Mots (1965) citados por Nhancale (2004) através das seguintes fórmulas:

- Clorofila *a* (mg/l) =  $(13.65 \times A_{665}) - (5.7 \times A_{649})$
- Clorofila *b* (mg/l) =  $(25.79 \times A_{649}) - (7.6 \times A_{665})$
- Carotenóides (mg/l) =  $((1000 \times A_{470}) - (2.05 \times [\text{Chl } a \text{ (mg/l)}]) - (114.8 \times [\text{Chl } b \text{ (mg/l)}])) / 245$ .
- Feofitina *a* (mg/l) =  $(23.4 \times A_{666}) - (7.64 \times A_{654})$
- Feofitina *b* (mg/l) =  $(35.2 \times A_{654}) - (16.1 \times A_{666})$ .

#### 5.2.3.2. Extração e determinação da concentração da prolina

A extração e determinação da prolina livre foi feita segundo Bates *et al.* (1973).

Triturou-se 0.5 g de folha num almofariz, a seguir foi adicionado 2 ml de ácido sulfosacílico a 3%. Filtrou-se o homogeneizado usando se papel de Wattman # 2.

Em 2 ml do filtrado, adicionou-se "ácido glacial acético e ácido ninídrino (2 ml cada) num tubo de ensaio, incubou-se durante 1 hora num banho-maria a 100 °C e, a reacção foi determinada em banho gelo.

Ao produto resultante foram adicionados 4 ml de tolueno e agitou-se vigorosamente durante 20 segundos.

O cromóforo contendo tolueno foi aspirado da fase aquosa, colocado a temperatura ambiente e fez-se a leitura da absorvância a 520nm, usando o tolueno como branco.

A concentração da prolina foi determinada a partir da curva de calibração preparada conforme o Anexo 2.



### 5.2.3.3. Extração e determinação da concentração de proteínas

#### A – Extração de proteína

A extração da proteína nas folhas foi feita usando a compilação dos métodos desenvolvidos por Uno *et al.* (1996) e Diop *et al.* (2004) para extração da proteína nos tecidos verdes das plantas.

Pesou-se 1 g do material fresco, adicionou-se uma ponta de colher de areia de Quartzo e triturou-se num almofariz. Em seguida, homogeneizou-se em 1 ml do tampão de extração (50mM Tris-HCl pH 8.9) contendo 10mM  $\beta$ -mercaptoethanol. Transferiu-se o homogeneizado para um tubo de “Eppendorf”, incubou-se em gelo durante 15 minutos e centrifugou-se a 5000 rpm durante 30 minutos a 4 °C.

Transferiu-se o sobrenadante para um “Eppendorf” e conservou-se o extracto protéico.

A concentração da proteína foi determinada pelo método de Lowry como descrito a seguir.

#### B – Determinação da concentração de proteínas

A determinação do conteúdo protéico foi efectuada pelo método de Lowry modificado por Lebendiker (2002), em duplicado, usando albumina do soro bovino (BSA) como padrão.

Este método é usado para estimar a quantidade de proteínas em amostras biológicas. As proteínas são pre-tratadas com o ião de cobre em solução alcalina, e a seguir, os aminoácidos aromáticos, contidos na amostra tratada, reduzem o ácido fosfomolibdatefosfotungstico presente no Reagente de Folin. O produto final da reacção era azul.

Para o efeito, preparou-se o reagente D pela mistura dos reagentes B e C (1.0 ml cada), ao qual foi adicionado o reagente A para completar um volume de 100 ml. Os reagentes A, B e C foram preparados como descrito no Anexo 3.

Pipetou-se 0.3 ml do extracto protéico para um tubo de ensaio e completou-se o volume com 0.5 ml de água.

Adicionou-se 2.5 ml do reagente D, agitou-se vigorosamente e deixou-se incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Passados os 15 minutos, adicionou-se 0.25 ml do reagente Folin-Fenol e deixou-se ocorrer a reacção durante 30 minutos.

Procedeu-se a leitura da absorvância num espectrofotômetro a 650 nm.

A concentração de proteína foi determinada a partir da curva de calibração preparada conforme o Anexo 3.

### 5.3. Análise dos dados

Os dados digitados em Microsoft Excel 2003 foram convertidos para o pacote estatístico "STATA 10".

Em cada parâmetro, os valores da média e do desvio padrão de cada tratamento e colheita para as três variedades foram analisados através do teste estatístico "One-Way ANOVA". e comparados através dos testes de comparação de Bonferroni, Scheffe. O teste de homogeneização usado foi de Bartlett e a significância foi aceite a  $P < 0,05$  (Fry, 1994; Zar, 1996).

A relação entre a proteína e a prolina e entre a clorofila e feofitina foi feita em Microsoft Excel 2003 através do teste de regressão linear ao nível de significância  $\alpha = 0.05$  (Fry, 1994; Zar, 1996).

## 6. Resultados

### 6.1. Desenvolvimento fenotípico

Através de análise visual, a variedade IT82E-18 apresentou um alto vigor nas condições de controlo, mas aparentemente foi a mais afectada pelo stress hídrico com muitos danos nas folhas. Ao contrário das outras, esta cultivar foi a única que floriu tanto nas condições óptimas de irrigação (9 semanas depois da sementeira) como no stress hídrico (10 semanas depois da sementeira) e até produziu frutos.

As variedades Tete-2 e Timbawene moteado mostraram um melhor desenvolvimento em condições de stress hídrico. Aparentemente, mantiveram a coloração das folhas e alongamento dos caules e também, uma aparência saudável como as do controlo.

### 6.2. Pigmentos fotossintéticos

#### 6.2.1. Clorofilas *a* e *b* e carotenóides

Em condições de stress, observou-se uma redução do teor da clorofila *a* em todas as variedades, excepto na quarta semana em que a variedade Timbawene moteado sofreu um aumento de 2.51% (tabela 2). Na sétima semana, as variedades Tete-2 e IT82E-18 sofreram reduções de 22.37% e 20.25%, respectivamente, reduções estatisticamente significativas ( $P=0.001$  para Tete-2 e  $P=0.017$  para IT82E-18) em relação aos seus respectivos controlos (tabela 2 e Anexo 5A).

De uma forma geral, as variedades Tete-2 e IT82E-18 sofreram as maiores reduções (15.9% e 15.4%, respectivamente). No entanto, a variedade Timbawene moteado sofreu uma redução de apenas 2.7%.

Quanto à clorofila *b*, todas as variedades sofreram redução em condições de défice hídrico para todas as colheitas, com excepção da sétima semana em que IT82E-18 registou um aumento significativo de 28% ( $P=0.000$ ) em relação ao respectivo controlo. A variedade Timbawene moteado foi a mais afectada pelo stress hídrico, tendo sofrido reduções significativas de 14,4% ( $P=0.002$ ) e 25,6% ( $P=0.010$ ) na quarta e sétima

semanas, respectivamente, em relação aos seus respectivos controlos (tabela 2 e Anexo 5B).

Comparativamente às outras variedades, a variedade IT82E-18 apresentou maior conteúdo médio de clorofila *b* (14.77mg/g) em condições de stress hídrico.

**Tabela 2.** Efeito do stress hídrico sobre as concentrações (mg.g<sup>-1</sup> do peso fresco) das clorofilas *a* e *b* e carotenóides das três variedades de feijão-nhamba. Média±desvio padrão de 6 plantas. Médias seguidas de letras iguais para tratamentos dentro da variedade por semana (letras minúsculas) e semanas dentro da mesma coluna do tratamento stress por variedade (letras maiúsculas) não diferem significativamente entre si ao nível de significância de 0.05 de probabilidade pelo teste de Bonferroni e Scheffe.

\* Apesar de letras diferentes, não há diferenças significativas; os valores apresentados em *itálico*, apesar de não significativos, são importantes na variação do respectivo parâmetro.

Variedade	Semanas após sementeira	Clorofila <i>a</i>		Clorofila <i>b</i>		Carotenóides	
		Controlo	Stress	Controlo	Stress	Controlo	Stress
IT82E-18	4	23.12a±1.9	20.87Aa±2.58	17.85a±1.05	14.13Ab±1.96	1.29a±0.22	0.16Aa±4.11
	7	25.04a±2.18	19.97Ab±1.11	13.58a±0.67	18.91Bb±1.19	1.19a±0.54	0.46Aa±0.451
	10	22.9a±2.66	19.27Aa±2.87	13.4a±1.18	11.28Ca±1.77	1.13a±0.24	1.61Aa±0.3
Tete-2	4	19.42a±2.39	15.87A*a±1.19	10.08a±1.36	8.02Aa±1.36	2.72a±0.21	2.04A*a±0.48
	7	23.56a±2.34	18.29B*b±2.29	10.83a±3.54	7.81Aa±1.07	2.43a±0.41	1.41Ab±0.17
	10	22.03a±0.87	20.49Ba±0.96	10.59a±0.97	9.79Aa±1.09	2.14a±0.30	2.58B*a±0.59
Timbawene moteado	4	<i>20.2a±1.86</i>	<i>20.72Aa±2.2</i>	14.5a±1.66	12.41Ab±1.1	<i>1.65a±0.29</i>	<i>2.26Aa±0.45</i>
	7	<i>20.39a±1.13</i>	<i>17.38Aa±2.55</i>	12.21a±0.94	9.09Ab±2.01	1.94a±0.45	0.59Bb±0.36
	10	<i>20.18a±1.99</i>	<i>21.01a±1.98</i>	<i>13.11a±0.98</i>	<i>12.51Aa±1.52</i>	<i>0.76a±0.08</i>	<i>1.63Aa±0.25</i>

Quanto ao conteúdo de carotenóides em condições de stress hídrico, a variedade IT82E-18 sofreu redução em todas as semanas, apesar de não significativas ( $P=1.000$ ). Para a variedade Tete-2, as reduções não foram significativas na quarta ( $P=0.090$ ) e décima ( $P=1.000$ ) semanas, mas significativas na sétima semana ( $P=0.002$ ). Todavia, a variedade Timbawene moteado sofreu uma redução significativa na sétima semana ( $P=0.000$ ) e nas restantes semanas, sofreu um aumento não significativo ( $P=0.921$  na quarta semana e  $P=0.799$  na décima semana) (tabela 2 e Anexo 5C).

Duma forma geral, o stress hídrico reduziu os níveis médios de carotenóides em 38.23% e 17.28% nas variedades IT82E-18 e Tete-2, respectivamente, portanto, as mais afectadas. Apesar de ter sofrido uma significativa redução, a variedade Tete-2 apresentou os teores médios mais elevados de carotenóides (2.03 mg/g) quando comparado com as outras variedades nas mesmas condições de stress hídrico (tabela 2).

### 6.2.2. Feofitinas *a* e *b*

**Tabela 3.** Efeito do stress hídrico sobre as concentrações ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  do peso fresco) das feofitinas *a* e *b* das três variedades de feijão-nhamba. Os dados referem-se à média $\pm$ desvio padrão de 6 plantas. Médias seguidas de letras iguais para tratamentos dentro da variedade por semana (letras minúsculas) e semanas dentro da mesma coluna do tratamento stress por variedade (letras maiúsculas) não diferem significativamente entre si ao nível de significância de 0.05 de probabilidade pelo teste de Bonferroni e Scheffe.

Os valores apresentados em itálico, apesar de não significativos, são importantes na variação do respectivo parâmetro.

Variedade	Semanas após sementeira	Feofitina <i>a</i>		Feofitina <i>b</i>	
		Controlo	Stress	Controlo	Stress
IT82E-18	4	21.46 $\pm$ 1.58	17.59Aa $\pm$ 2.26	9.41a $\pm$ 1.53	13.96Ab $\pm$ 2.83
	7	18.79a $\pm$ 1.46	23.09Ba $\pm$ 1.60	10.31a $\pm$ 1.54	12.92Aa $\pm$ 1.26
	10	17.79a $\pm$ 2.73	22.95Bb $\pm$ 3.08	7.9a $\pm$ 0.9	9.69Ba $\pm$ 1.56
Tete-2	4	17.44a $\pm$ 2.66	13.93Aa $\pm$ 1.78	7.34a $\pm$ 1.66	6.24Aa $\pm$ 1.78
	7	15.94a $\pm$ 2.03	18.45Ba $\pm$ 4.37	5.49a $\pm$ 1.37	6.5Aa $\pm$ 0.53
	10	19.15a $\pm$ 5.38	20.87Ba $\pm$ 2.28	7.32a $\pm$ 1.7	7.62Aa $\pm$ 0.68
Timbawene moteado	4	21.52a $\pm$ 2.25	17.25Ab $\pm$ 1.62	8.49a $\pm$ 1.2	14.52Ab $\pm$ 3.84
	7	17.41a $\pm$ 2.16	16.91Aa $\pm$ 2.55	7.68a $\pm$ 1.7	8.19Ba $\pm$ 2.57
	10	17.73a $\pm$ 1.21	19.92Aa $\pm$ 0.95	11.18a $\pm$ 1.34	8.37Ba $\pm$ 2.45

Conforme ilustrado na tabela 3, sob condições de stress hídrico, a variedade IT82E-18 sofreu um aumento do conteúdo médio de feofitina *a* em 8.8% e de feofitina *b* em 24.5%, um aumento estatisticamente significativo ( $P=0.006$ ) (tabela 3 e Anexo 5D e 5E).

Não foram observadas diferenças significativas entre o stress e controlo na variedade Tete-2, para ambos tipos de feofitina. Apesar de ter sofrido uma considerável redução

(20.1%) do nível de feofitina *a* na quarta semana, esta variedade registou um aumento de 1.35% de feofitina *a* e 1.03% de feofitina *b*, em condições de stress hídrico (tabela 3).

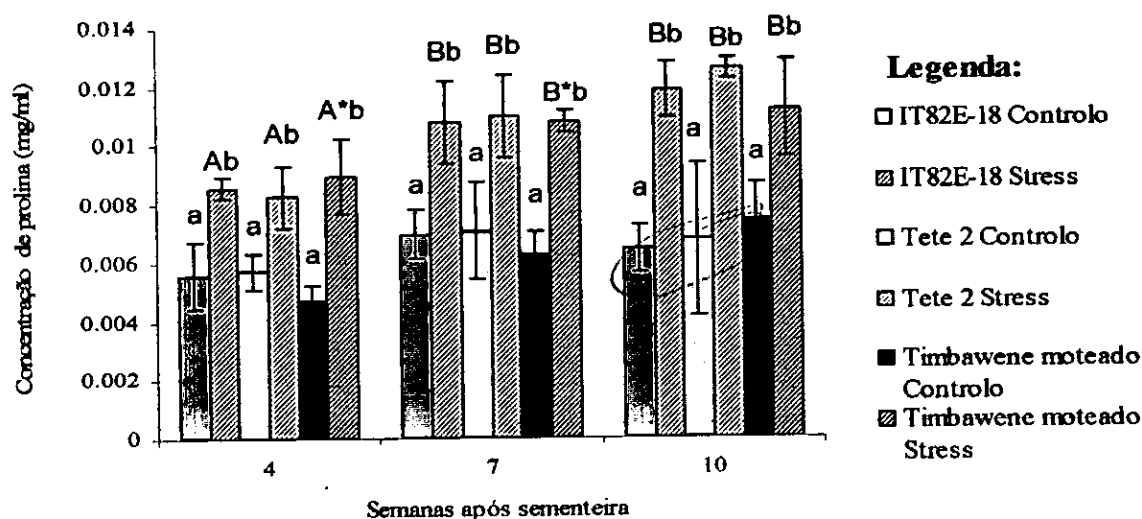
A variedade Timbawene moteado registou uma redução (4.6%) de feofitina *a* e um aumento de feofitina *b* em 12% nas condições de stress hídrico.

A variedade IT82E-18 foi a que mais sofreu o efeito do stress para os dois tipos de feofitinas, enquanto que Timbawene moteado e Tete-2 não foram severamente afectadas pelo stress hídrico em termos de feofitina *a* e feofitina *b*, respectivamente.

### 6.3. Prolina

As três variedades exibiram um comportamento similar quanto ao conteúdo da prolina, quando submetidas ao stress hídrico. Os teores de prolina livre nas folhas do feijão-nhamba em condições de stress hídrico foram significativamente elevados em todas as semanas nas três variedades ( $P=0.000$  em todas as semanas e em todas as variedades) (figura 2 e Anexo 5F).

De um modo geral, não houve diferenças significativas no modo como o stress hídrico afectou o conteúdo de prolina nas três variedades. Entretanto, comparativamente aos seus respectivos controlos, o conteúdo de prolina nas folhas sob stress hídrico aumentou em 38.9%, 38.3% e 40.5% para as variedades IT82E-18, Tete-2 e Timbawene moteado, respectivamente, ao longo de toda a experiência.



**Figura 2.** Efeito do stress hídrico no conteúdo de prolina livre das três variedades de feijão-nhamba. Cada barra indica a média  $\pm$  desvio padrão de 6 plantas. Barras com letras iguais para tratamentos dentro da semana por variedade (letras minúsculas) e semanas dentro do tratamento stress por variedade (letras maiúsculas) não diferem estatisticamente entre si ao nível de significância de 0.05 de probabilidade pelo teste de Bonferroni e Scheffe.

\* Apesar de letras diferentes, não há diferenças significativas.

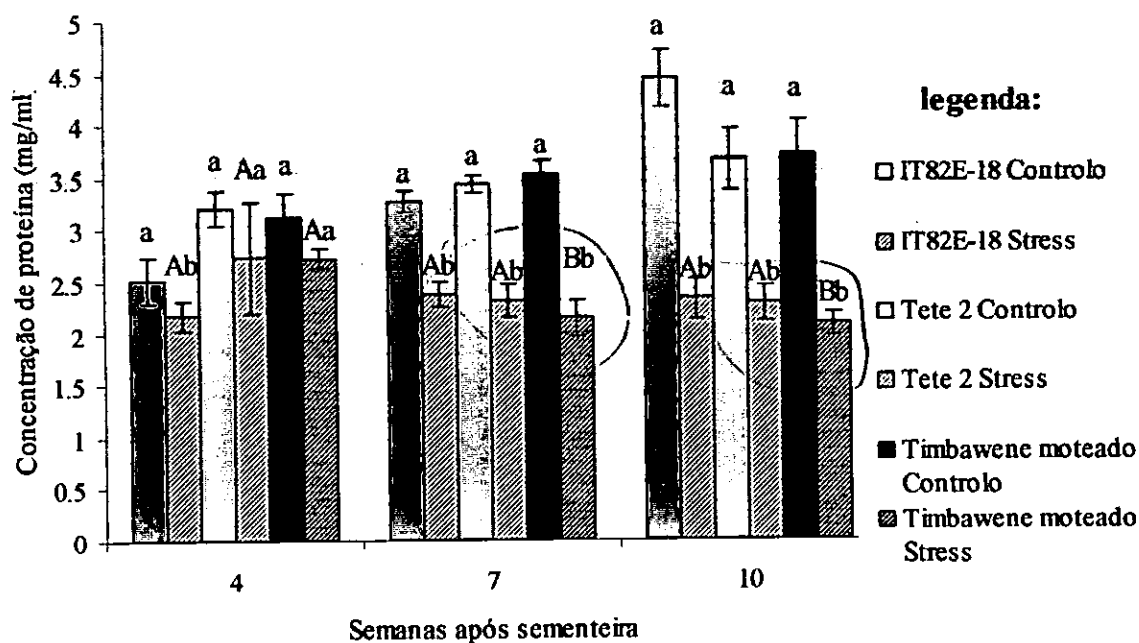
#### 6.4. Proteína

O conteúdo protéico das folhas de feijão-nhamba foi afectado pelo stress hídrico em todas as variedades, tendo se registado uma redução significativa deste em relação ao controlo para todas as colheitas (figura 3).

Na quarta semana, não se observou diferenças significativas ( $P=0.100$  e  $P=0.183$  para IT82E-18 e Timbawene moteado, respectivamente) entre as plantas submetidas ao stress hídrico e as submetidas a condições óptimas de irrigação, porém, nas duas últimas (sétima e décima semanas) as diferenças foram significativas ( $P=0.000$ ) para todas cultivares, como resultado do aumento acentuado do teor protéico no controlo (Anexo 5G).

Comparando as colheitas do stress hídrico entre si, as variedades IT82E-18 e Tete-2 não apresentaram diferenças significativas dos níveis de proteína entre as três semanas de colheita: variedade IT82E-18 ( $P=0.633$  entre quarta e sétima;  $P=0.863$  entre quarta e

décima;  $P=0.998$  entre sétima e décima) e variedade Tete-2 ( $P=0.223$  entre quarta e sétima;  $P=0.073$  entre quarta e décima;  $P=1.000$  entre sétima e décima). Entretanto, a variedade Timbawene moteado apresentou diferenças significativas ( $P=0.000$ ) entre a quarta e sétima semanas e entre quarta e décima, ao passo que entre a sétima e a décima semanas, as diferenças não foram significativas ( $P=1.000$ ) (figura 3 e Anexo 5G). As variedades Timbawene moteado e IT82E-18 registraram maior redução da proteína em relação à Tete-2.



**Figura 3.** Efeito do stress hídrico no conteúdo de proteínas solúveis das três variedades de feijão-nhema sob condições de stress hídrico. Cada barra indica a média  $\pm$  desvio padrão de 6 plantas. Barras com letras iguais para tratamentos dentro da semana por variedade (letras minúsculas) e semanas dentro do tratamento stress por variedade (letras maiúsculas) não diferem estatisticamente entre si ao nível de significância de 0.05 de probabilidade pelo teste de Bonferroni e Scheffé.



### 6.5. Relação entre prolina e proteína

A figura 4 mostra uma relação negativa moderada entre as concentrações da prolina e da proteína de todas as variedades, isto é, a concentração da prolina aumenta com a redução da concentração da proteína. A recta da regressão indica a existência de 49.8% da variação da concentração de prolina em relação concentração protéica (Anexo 5V).

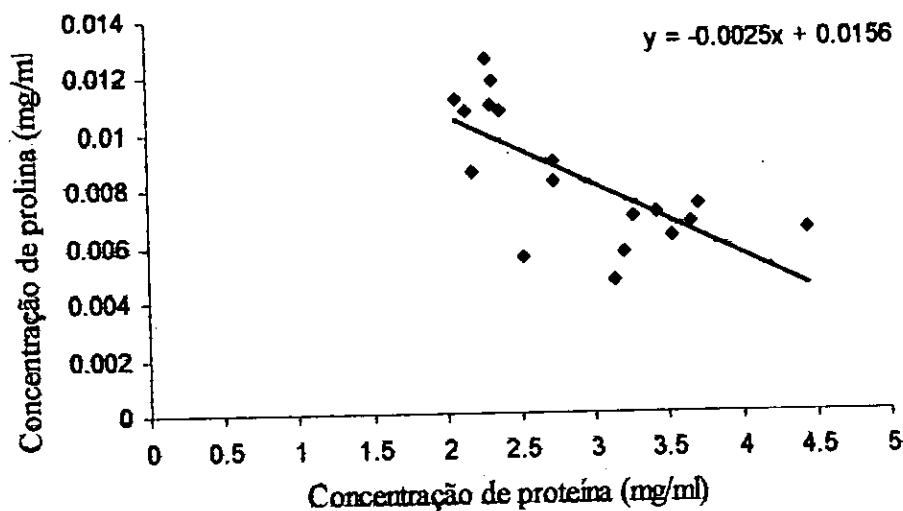


Figura 4. Relação entre as concentrações de prolina e de proteína das três variedades de feijão-nhemba.

## 7. Discussão

Os resultados desta investigação são, duma forma geral, complementares aos resultados de muitas pesquisas anteriores, apesar de cada variedade de feijão-nhema usada neste estudo ter mostrado uma resposta específica em cada parâmetro estudado.

O nível de resistência e a forma como cada parâmetro é afectado pelo stress ambiental é determinado pelo genótipo (Singh & Rachie, 1985; Iuchi *et al.*, 1996; Marfo *et al.*, 1997; Magloire, 2005).

### 7.1. Pigmentos fotossintéticos

#### 7.1.1. Clorofilas *a* e *b* e carotenóides

A redução dos níveis das clorofilas *a* e *b* observada nas variedades Tete-2 e IT82E-18 durante o défice hídrico foi, também observado em pesquisas anteriores nas cultivares pitiúba e pérola de Feijão-nhema (Silva *et al.*, 2004a); seis cultivares de feijão-francês (Upreti *et al.*, 1998); mamona (Pinheiro *et al.*, 2007); quatro variedades de Cana-de-açúcar (Gonçalves, 2008) e duas variedades de Videira (Wright *et al.*, 2008).

Apesar do fechamento dos estomas induzido pelo stress hídrico evitar a perda de água e proteger as folhas contra danos da dissecação (Hopkins & Hüner, 2004).

Do ponto de vista bioquímico, as reduções dos níveis das clorofilas *a* e *b* observadas nas variedades Tete-2 e IT82E-18 sob stress hídrico parecem estar fortemente relacionadas à menor capacidade de síntese ou degradação das mesmas e à possíveis danos fotoquímicos (fotoinibição e/ou fotoxidação) ou danos na maquinaria de fixação bioquímica do carbono, do que às limitações de ordem estomática propriamente dita (Pinheiro *et al.*, 2007), pois segundo Syros *et al.* (2004), as concentrações das espécies activas do oxigénio aumentam logo que os estomas se fecham em condições de stress hídrico o que pode criar um rearranjo molecular deteriorativo nas membranas dos tilacóides, expondo-se a clorofila ao oxigénio e reduzir, portanto, o conteúdo da clorofila.

Por outro lado, também pode se relacionar a redução das clorofilas sob stress hídrico às mudanças na proporção de proteínas e lípidos do complexo pigmento-proteína (Gonçalves, 2008) e ao aumento da actividade da clorofilase (Gonçalves, 2008).

A variedade Timbawene moteado registou uma resposta contrária das outras nas condições de stress hídrico, aumentando o conteúdo de clorofila *a* na quarta e décima semanas. Este aumento pode ser explicado pela provável capacidade de fixação do nitrogénio que possa ser exibida por esta variedade nas condições de stress hídrico (Silva *et al.*, 2004b).

Por outro lado, este aumento ou a baixa redução do conteúdo médio da clorofila *a* (2.7%) nesta variedade Timbawene moteado pode ser indicativo de que sob condições de stress hídrico, esta variedade adopte algumas rotas alternativas de dissipação de energia a fim de evitar problemas de foto-inibição e foto-oxidação, seja através dos carotenóides (Taiz & Zeiger, 2004; Lima *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2007) ou aumento da actividade das peroxidases, como resultado do fechamento estomático e baixa taxa de assimilação do carbono. Estas enzimas anti-oxidantes participam na construção da parede celular (Taiz & Zeiger, 2004), protegendo a clorofila e toda maquinaria fotossintética da oxidação pelas espécies reactivas do oxigénio (Syros *et al.* 2004).

A redução do conteúdo de carotenóides que foi observada neste estudo para as variedades IT82E-18 e Tete-2 pode, provavelmente, ser devido à inibição das vias de síntese de carotenóides, à degradação de  $\beta$ -caroteno e à redução na formação de zeaxantina (Lima *et al.*, 2004).

Por outro lado, o incremento no nível de carotenóides (2.9%) ou sua estabilidade que se observa na variedade Timbawene moteado sob stress foi também relatado em quatro variedades de cana-de-açúcar (Gonçalves, 2008) e algumas variedades de arroz submetidas ao stress osmótico (Lima *et al.*, 2004).

Os resultados relativos aos pigmentos observados nesta pesquisa corroboram o papel fotoprotector dos carotenóides realçado por Gonçalves (2008). Certamente, a degradação ou inibição da síntese de carotenóides nas variedades IT82E-18 e Tete-2 implicou maior degradação das clorofilas nas mesmas variedades. Em adição, o aumento do conteúdo de

carotenóides na variedade Timbawene moteado implicou uma redução não significativa das clorofilas, o que sugere que os níveis fisiológicos de carotenóides nesta variedade podem ser altos ou suficientes para a foto-protecção.

### 7.1.2. Feofitinas *a e b*

As feofitinas formam um outro grupo de pigmentos importantes na fotossíntese (Hopkins & Hüner, 2004). É evidente que o stress hídrico aumenta o conteúdo das feofitinas nas folhas, nos casos em que se verifica a degradação das clorofilas (Hinckley *et al.*, 1981), pois, segundo Hopkins & Hüner (2004), sob condições ácidas a clorofila é convertida em feofitina, pela remoção do  $Mg^{2+}$ . Nas células fotossinteticamente activas, o citosol é moderadamente ácido (pH 6-6.5) e o estroma dos cloroplastos é alcalino (pH 7.5-8). O stress hídrico inibe o transporte dos electrões e a fosforilação, quebrando a acumulação dos protões no lúmen dos tilacóides e baixa o pH no estroma.

### 7.3. Prolina

Os resultados indicam uma relação linear entre stress hídrico e a concentração de prolina. Resultados semelhantes foram obtidos para o trigo (Fumis & Pedras, 2002); duas variedades de Cana-de-açúcar (Brito *et al.*, 2008); variedade não especificada de feijão-nhemba (Somal & Yapa, 1998); variedade Manteguiinha de feijão-nhemba (Costa *et al.*, 2005); variedades Sempre-verde e Pitiúba de feijão-nhemba (Oliveira-Neto *et al.*, 2005b).

O aumento do conteúdo de prolina sob condições de stress hídrico pode ser atribuído à vários mecanismos bioquímicos: ao aumento das actividades das enzimas envolvidas na sua síntese, à inibição da sua oxidação (Fumis & Pedras, 2002), à degradação da proteína durante o stress ou mudança na síntese *de novo* de proteínas (Hare *et al.*, 1998).

A acumulação da prolina é conhecida como um mecanismo eficiente para a adaptação celular ao stress osmótico. Por outro lado, foi demonstrado que tal acumulação tem menor contributo sobre o total de osmólitos acumulados em condições de stress hídrico, mas tem um importante papel na manutenção do estoque de nitrogénio e carbono para

serem reutilizados (Brito *et al.* 2008) e na recuperação das plantas ao término do stress (Fumis & Pedras, 2002).

Segundo Errabi *et al.* (2006) citados por Brito *et al.* (2008), o aumento da prolina induzido pelo stress hídrico é fracamente envolvido com ajustamento osmótico na célula. Além disso, ajuste osmótico é um caráter dependente de espécie/variedade (Brito *et al.*, 2008). Por exemplo, o feijão-nhemba é considerado como não-ajustador osmótico (Hare *et al.*, 1998; Hopkins & Hüner, 2004; Brito *et al.*, 2008).

#### 7.4. Proteína

O stress hídrico afecta intensamente o metabolismo do nitrogênio nas plantas (Hare *et al.*, 1999; Purcell *et al.*, 2000) o que acarreta diminuição na síntese de proteínas e acumulação de aminoácidos livres (Brito *et al.*, 2008).

A redução dos níveis de proteína sob condições de stress hídrico em relação aos respectivos controlos observadas neste estudo, foi também relatada anteriormente nas variedades Sempre-verde e Pitiúba de feijão-nhemba (Oliveira-Neto *et al.*, 2005a).

Hamidou *et al.* (2007) trabalhando com cinco variedades de feijão-nhemba (B21, Gorom, Mouride TN, KVX). Observou que em todas as variedades o conteúdo da proteína não foi significativamente afectado com o prolongamento do stress hídrico, explicou que as proteínas não eram degradadas e a sua síntese era inibida sob stress hídrico, ou a sua degradação e síntese *de novo* eram similares. Esta constatação está em conformidade com a resposta apresentada pela variedade IT82E-18 desde a quarta até à décima semana e as variedades Tete-2 e Timbawene moteado da sétima semana à décima em condições de stress hídrico.

### 7.5. Relação entre prolina e proteína

Existe grande controvérsia sobre se o aumento na concentração de prolina induzido por stress hídrico, está associado ao ajuste osmótico, à protecção celular ou se é um mero sintoma de injúria (degradação da proteína e outros).

Contudo, há indicações de que a acumulação de prolina em condições no stress hídrico pode ser devido à degradação da proteína durante o stress ou mudança na síntese *de novo* de proteínas (Hare *et al.*, 1998).

Uma relação de 49.8% entre as concentrações de prolina e de proteína indica uma variação moderada do nível de prolina em função do nível protéico. Ao mesmo tempo, o prolongamento do stress hídrico não variou significativamente os níveis de proteína em relação à quarta semana sob condições de stress hídrico para a variedade IT82E-18 e induziu à diferenças não significativas entre a sétima e a décima colheitas para Tete-2 e Timbawene moteado. Isto significa que a proteína não foi degradada e a sua síntese foi inibida durante de stress hídrico, ou a sua degradação e síntese *de novo* foram similares. Por outro lado, significaria que o aumento da prolina (que é exacerbada com o prolongamento do stress) no feijão-nhemba não foi resultado da degradação da proteína, mas sim, resultado do aumento da actividade das enzimas envolvidas na síntese deste aminoácido e mudança na síntese *de novo* das proteínas. Além disso, sugere-se que o papel da prolina acumulada seja mais protector ou de estabilização das proteínas no feijão-nhemba do que ajuste osmótico (Paleg *et al.*, 1985; Hare *et al.*, 1998; Hopkins & Hüner, 2004; Brito *et al.*, 2008).

## 8. Conclusão

Nas condições em que foi conduzido o estudo, o déficit hídrico afectou quase todos os parâmetros bioquímicos medidos nas três variedades (Timbawene moteado Tete-2 e IT82E-18), nomeadamente, a Redução dos conteúdos das clorofilas, carotenóides e proteínas, e aumento dos níveis de feofitinas e prolina.

O stress hídrico reduziu o conteúdo de clorofila *a* nas variedades Tete-2 e IT82E-18. Tendo a variedade Timbawene moteado se mostrado mais resistente ao stress hídrico quanto ao teor de clorofila *a*.

A variedade IT82E-18 apresentou maior conteúdo médio de clorofila *b*, tendo sofrido uma redução não significativa nas condições de déficit hídrico no solo. O stress hídrico reduziu o conteúdo de clorofila *b* nas variedades Timbawene moteado e Tete-2.

O stress hídrico reduziu os níveis de carotenóides nas variedades IT82E-18 e Tete-2, e aumentou na variedade Timbawene moteado.

O stress hídrico aumentou o teor das feofitinas (*a* e *b*) na variedade IT82E-18 do que nas outras variedades nas condições de déficit hídrico. A variedade Timbawene moteado aumentou o teor de feofitina *a* em condições de stress hídrico.

O stress hídrico aumentou significativamente o conteúdo de prolina nas três variedades.

O stress hídrico reduziu significativamente o conteúdo protéico nas três variedades, tendo a variedade Timbawene moteado se mostrado menos resistente ao stress hídrico.

O stress hídrico promove incremento nos teores de prolina, mas não tem mais efeito sobre o conteúdo protéico nas folhas das plantas.

que a medida não mencionada e que  
com base em que parâmetros.

## 9. Recomendações

Recomenda-se um estudo mais aprofundado dessas mesmas variáveis durante todo o ciclo, num outro período do ano e em condições ambientais totalmente controladas, tendo em conta que as respostas podem ser diferentes nas fases subsequentes à fase vegetativa.

Futuras pesquisas poderiam investigar: a relação entre os conteúdos de feofitinas e clorofilas, juntamente com a concentração de  $Mg^{2+}$  e carotenóides; a relação entre a concentração das peroxidases e o conteúdo de clorofila; outras variedades locais de feijão-nhemba, com vista a seleccionar as variedades mais adequadas para o clima moçambicano; os genes responsáveis pela resistência das variedades locais aos variados tipos de stress.



## 10. Bibliografia

- Atwell, B., P. Kriedemann & C. Turnbull (1999). Plants in action- Adaptation in nature performance in cultivation. 664pp. New Zealand. Macmillan Education Australia PTY Ltd.
- Bates, L. S., R. P. Waldren & I. D. Teare (1973). Rapid Determination of Free Proline For Water-Stress Studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207. [<http://www.springerlink.com/content/t185h76386515086/>]. Consultado a: 25/07/08.
- Brito, L. K. F. L., J. A. G. Silveira, L. L. F. Lima, A. R. S. Timóteo, R. M. Chagas & C. E. C. Macedo (2008). Alterações no Perfil de Frações Nitrogenadas Em Calos de Cana-de-açúcar Induzidas Por Deficit Hídrico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 43 (6).
- Costa, R. C. L., A. K. S. Lobato & C. F. Oliveira-Neto (2005 a). Variação nos Teores de Proteínas Solúveis Totais em Folhas de Feijão-caupi Submetidas ao Déficit Hídrico. 4 pp.
- Costa, R. C. L., A. K. S. Lobato & C. F. Oliveira-Neto (2005b). Níveis de Prolina em Folhas de Feijão-caupi Submetidas ao Déficit Hídrico. 3pp.
- Diallo, A. T., P. I. Samb, H. Roy-Macauley (2001). Water Status and Stomatal Behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Plants Inoculated With Two *Glomus* Species at Low Soil Moisture Levels. *Eur. J. Soil Biol.* 37: 187-196.
- Diop, N. N., M. Kidri, A. Repellin, M. Gareil, A. d'Arcy-Lameta, A. T. P. Thi & Y. Zuily-Fodil (2004). A Multicystatin Is Induced By Drought-Stress In Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Leaves. *FEBS Letters*. 577 (3): 545-550. [<http://www.sciencedirect.com/science>]. Consultado a 19/03/08.
- Ehlers, J.D. & A. E. Hall (1997). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crop Research*. 53:187-204.
- Fry, J. C. (1994). Biological Data Analysis: A Pratical Approach. 418pp. Oxford, Oxford unuvesity press.

- Fumis, T. F. & J. F. Pedras (2002). Variação nos Níveis de Prolina, Diamina e Poliaminas em Cultivares de Trigo Submetidas a Deficits Hídricos. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 37( 4): 449-453.
- Giami, S. Y. (2005). Compositional and Nutritional Properties of Selected Newly Developed Lines of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Journal of Food Composition and Analysis. 18(7): 665-673. [<http://www.sciencedirect.com /science>]. Consultado a 19/09/08.
- Gonçalves, E. R. (2008). Fotossíntese, Osmorregulação e Crescimento Inicial de Quatro Variedades de Cana-de-açúcar Submetidas à Deficiência Hídrica. Tese Pós-graduação. 61pp. Estado de Alagoas, Universidade Federal de Alagoas [[http://bdtd.ufal.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=449](http://bdtd.ufal.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=449)]. Consultado a 17/11/08.
- Hall, A. E. (2004). Comparative Ecophysiology of Cowpea, Common Bean, and Peanut. In: Nguyen, H. T. & A. Blum (2004). Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding. 271 - 325 pp. California. University of California. [<http://books.google.com/books?id=IuIccxzuWzcC&hl=pt-BR>]. Consultado a 16/11/08.
- Hamidou, F., G. Zombre, S. Guinko, O. Diouf, N. N. Diop & S. Braconnier (2007). Physiological, biochemical and agromorphological responses of five cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to water deficit under glasshouse conditions. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 11(3) [<http://popups.ulg.ac.be/Base/document.php?id=968>]. Consultado a 17/11/08
- Hare, P. D., H. W. A. Cress & J. van Staden (1999). Proline Synthesis and Degradation: a Model System For Elucidating Stress-Related Signal Transduction. Journal of Experimental Botanic. 50(333): 413-434.
- Hinckley, T. M., R. O. Teirey, F. Duhme & M. Richter (1981) Temperate Hardwood Forests. Water Deficits and Plant Growth. 6: 153 - 208.
- Hopkins, W. G. & N. P. A. Hüner (2004). Introduction to Plant Physiology. 3<sup>rd</sup> edition. 560 pp. USA. John Wiley & Sons, Inc.

Instituto Nacional Estatística (2007). Evolução da Produção Agrícola das Culturas Alimentares Básicas (2002-2006).

Iuchi, S., K. Yamaguchi-Shinozaki, T. Urao, & K. Shinozaki (1996). Characterization of Two cDNAs For Novel Drought-Inducible Genes in Highly Drought-Tolerant Cowpea. *Journal Plant Research*. 109(1096): 415-424.

Lebendiker, M (2002). The Protein Purification Facility. *protocol Online*. [http://www.protocol-online.org/cgi-bin/prot/view\_cache.cgi?ID=3268]. Consultado a 09/08/08.

Lima, M. G. S., N. F. Lopes, M. A. Bacarin, C. R. Mendes (2004). Efeito do Estresse Salino Sobre a Concentração de Pigmentos e Prolina em Folhas de Arroz. *Bragantia* 63(3).

Magloire, N. (2005). The Genetic, Morphological and Physiological Evaluation of African Cowpea Genotypes. 119pp. Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Plant Sciences (Plant Breeding) at the University of the Free State Bloemfontein.

Marfo, K. D., W. Payne & F. Waliyar (1997). Assessing the Potential of Cowpea Genotypes Based on Some Yield Determinants of a Simple Physiological Model. *African Crop Science Journal*. 5(4): 341-350.

McKarsie, B. D. & Y. Y. Leshem (1994). Stress and stress coping in cultivated plants. 325pp. London- England. Kluwer Academic Publishers.

Messa, O. B. A. (2005). Efeito do Stress Hídrico no Crescimento da Mapira (*Sorghum bicolor*) e do milho (*Zea mays*). Tese de licenciatura. 70pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.

Mune Mune, M.A., S.R. Minka, & I.L. Mbome (2008). Response surface methodology for optimisation of protein concentrate preparation from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. *Food Chemistry*. [http://www.sciencedirect.com/science]. Consultado a: 04/03/08.

- Nhancala, B. A. (2004). Efeito do flúor no crescimento de *Lolium multiflorum*. Tese de Licenciatura. 56pp. Maputo. Universidade Eduardo Mondlane.
- Nielsen, E. T. & D. M. Orcutt. (1996). Physiology of plants under stress- Abiotic factors. 689pp. New York. John Wiley & sons, Inc.
- Oliveira-Neto, C. F., A. K. S. Lobato & R. C. L. Costa. (2005a). Teor de Proteínas Solúveis Totais em Folhas de Duas Cultivares de Feijão-caupi Sob Estresse Hídrico. 3 pp.
- Oliveira-Neto, C. F. , A. K. S. Lobato & R. C. L. Costa (2005b). Teor de Prolina em Folhas de Duas Cultivares de Feijão-caupi Sob Estresse Hídrico. 3 pp.
- Paleg, L. G., G. R. Stewart & R. Starr (1985). The Effect of Compatible Solutes on Proteins. Plant and Soil. 89: 83-94.
- Pinheiro, H. A.; J. V. Silva, L. Endres, V. M. Ferreira, C. A. Câmara, F. F. Cabral, J. F. Oliveira, L. W. T. Carvalho, F. K. P. Fonseca, & J. M. Santos (2007). Alterações na Fotossíntese e nos Teores de Pigmentos Cloroplastídicos em Plântulas de Mamona Cultivadas Sob Condições de Salinidade.
- Purcell, L. C., C. A. King & R. A. Ball.(2000). Soybean Cultivar Differences in Ureides and the Relationship to Drought Tolerant Nitrogen and Manganese Nutrition. Crop sci. 40: 1062-1070.
- Quilambo, O. A. (2000). Functioning of Ground Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Under Nutrient Deficiency and Drought Stress in Relation to Symbiotic Associations. 168 pp. van Denderen B. V., Groningen.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. (2001). Biologia vegetal. 6ª edição. 906pp. Brasil. Guanabara Koogans..
- Schoeneweiss, D. F. (1978). Water stress as a predisposing factor in plant disease. Water Deficits and Plant Growth. 5: 61-99.

Silva, D. B., P. C. M. Santos, I. M. S. Reis, R. S. Miranda, C. F. O. Neto, R. C. L. Costa (2004a). Teores de Carboidratos Solúveis Totais e Teores de Clorofilas em Folhas de Duas Cultivares de Feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] não Noduladas Submetidas ao Déficit Hídrico. E. Ciências Agrárias.

Silva, M. R., A. E. Klar, J. R. Passos (2004b). Efeitos do Manejo Hídrico e da Aplicação de Potássio nas Características Morfofisiológicas de Mudanças de *Eucalyptus grandis* W. (Hill ex. Maiden). Irriga, Botucatu. 9 (1): 31-40.

Singh, S. R. & K. O. Rachie (1985). Cowpea Research, Production and Utilization. 460pp. John Wiley & sons. New York.

Sitoe, T. A. (2005). Agricultura Familiar em Moçambique — Estratégias de Desenvolvimento Sustentável. 32 pp. [<http://www.sarpn.org.za/>]. Consultado a: 26/05/08.

Smallwood, M. F., C. M. Calvert & D. J. Bowles (1999). Molecular Responses to Drought Stress in Plants: Regulation of Gene Expression and Signal Transduction. In Shinozaki, K., K. Yamaguchi-Shinozaki, Q. Lin, M. Kasuga, K. Ichimura, T. Mizoguchi, T. Urao, S. Miyata, K. Nakashima, Z. K. Shinwari, H. Abe, Y. Sakuma, T. Ito & M. Seki (1999). Plant responses to environmental stress. 133-151pp. BIOS Scientific publishers Ltd. England.

Somal, T. L. C. & P. A. J. Yapa (1998). Acumulation of Proline in Cowpea Under Nutrient, Drought, and Saline Stresses. Journal of Plant Nutrition. 21(11). 2465-1473.

Syros, T., T. Yupsanis, M. Omirou & A. Economou (2004). Photosynthetic response and peroxidases in relation to water and nutrient deficiency in gerbera. Environmental and Experimental Botany. 52(1): 23-31.

Taiz, L. & E. Zeiger (2004). Fisiologia Vegetal. 3ª edição. 7119pp. São Paulo. Artmed Editora SA.

Uno, Y., M. Kanechi, N. Inagaki, N. Taki & S. Maekawa (1996). Growth and Protein Profile Responses in the Sea Aster (*Aster tripolium* L.) Suspension-cultured Cells to Salinity. Journal of Plant Research. 109(1096): 409-414.

Upreti, K. K., G. S. R. Murti & R. M. Bhatt. (1998). Response of French Bean Cultivars to Water Deficits: Changes in Endogenous Hormones, Proline and Chlorophyll. Plant Plantarum. 40(3): 381-388.

Wright, H., J. DeLong, R. Lada and R. Prange (2008). The Relationship Between Water Status and Chlorophyll *a* Fluorescence in Grapes (*Vitis* spp.).

Wyn Jones, R. G. & J. Gorham (1983) Osmoregulation. in: Physiological Plant Ecology III – Responses to the Chemical and Biological Environment. Encyclopedia of Plant Physiology. 12C: 35-58.

Zar, J. H. (1996). Biostatistical analysis. 3<sup>rd</sup> edition. 662pp. New Jersey. Prentice-Hall Inc.

Sites:

<http://www.uem.co.mz>. Consultado a: 26/05/08.

<http://www.nationmaster.com/encyclopedia/Cowpea>. Consultado a 18/10/08.

<http://www.cowpea.org/node/19>. Consultado a 18/09/08.

## ANEXOS

## Anexo 1

Tabela 1. Características físico-químicas do solo usado na experiência.

Parâmetro (unidade)		valor
Capacidade de troca catiónica (meq/100g)	Ca <sup>2+</sup>	0.40
	Mg <sup>2+</sup>	0.60
	K <sup>+</sup>	0.08
	Na <sup>+</sup>	0.02
Areia (%)		93.20
Argila (%)		5.30
Lodo (%)		1.40
pH (H <sub>2</sub> O)		6.60
pH (KCl)		5.60
Condutividade eléctrica (ms/cm)		0.03
Fósforo-bray (mg/100g)		0.29
N total (%)		0.02
Carbono (%)		0.20
Matéria orgânica (%)		0.35

Fonte: Quilambo (2000).



**Anexo 2****Preparação da curva de calibração para determinação da concentração da prolina**

Pesou-se 25 mg de prolina e fez-se reagir com 500 ml de água destilada, para se obter uma solução com concentração de 0.05 mg/ml (solução-mãe), da qual, por diluições em água destilada, foram preparadas soluções de diferentes concentrações (tabela 2).

Foram feitas duas réplicas para cada tubo e, em cada um dos tubos, adicionou-se o ácido ninídrico e ácido glacial acético (1 ml cada).

Colocou-se os tubos em banho maria durante 1 hora e em seguida colocou-se em banho de gelo onde ocorreu a reacção. 5 ml de tolueno (precipitante efectivo de proteína em soluções aquosas, sem interferir com o ácido ninídrico) foi adicionado a solução resultante e agitou-se vigorosamente durante 15 minutos.

Aspirou-se da fase aquosa cromóforo contendo tolueno, colocou-se a temperatura ambiente e procedeu-se a leitura das absorvâncias no espectrofotómetro a 520nm usando o tolueno como branco.

Tabela 1. Preparação das soluções de prolina para a construção da curva de calibração.

Tubo	Solução-mãe (ml)	Água destilada (ml)	Concentração (mg/ml)
1	0.02	1.98	0.0005
2	0.04	1.96	0.0010
3	0.10	1.90	0.0025
4	0.20	1.80	0.0050
5	0.30	1.70	0.0075
6	0.40	1.60	0.0100
7	0.50	1.50	0.0125
8	0.60	1.40	0.0150
9	0.70	1.30	0.0175
10	0.80	1.20	0.0200
11	0.90	1.10	0.0225
12	1.00	1.00	0.0250

### Anexo 3

#### **Preparação da curva de calibração para determinação da concentração protéica**

A curva padrão foi obtida a partir de quantidades conhecidas de albumina do soro bovino (BSA) a uma concentração de 1 mg/ml, em duplicado.

Em 6 tubos de ensaio foram pipetados os seguintes volumes de BSA: 0.0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5ml e preencheu-se de 0.5ml para cada tubo com água

Em cada tubo, adicionou-se 2.5 ml do reagente D, agitou-se vigorosamente e deixou-se incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Adicionou-se 0.25 ml do reagente Folin-Fenol e deixou-se ocorrer a reacção durante 30 minutos.

Procedeu-se a leitura da absorvância num espectrofotômetro a 650 nm utilizando como branco o tubo 1 (0.0 ml de BSA).

#### **Preparação dos reagentes de Lowry**

Reagente A: dissolveu-se 20 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  em 200 ml de NaOH a 0.5 N.

Reagente B: dissolveu-se 0.2 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$  em 20 ml de água destilada.

Reagente C: dissolveu-se 2 g de  $\text{K}_2\text{Tartrato} \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$  em 100 ml de água destilada.

Estes reagentes podem ser guardados indefinitivamente.

#### **Anexo 4**

### **Determinação do conteúdo volumétrico da água no solo**

O conteúdo volumétrico da água é igual à diferença entre a capacidade do campo e o ponto de emurchecimento permanente.

#### **Capacidade do campo**

É definido como o conteúdo de água saturado no solo em suas localizações naturais, após a água gravitacional passar através dele (Larcher, 1986, citado por Messa, 2005).

A capacidade de campo do solo usado foi determinada como a seguir:

Colocou-se o vaso vazio e calibrou-se a balança.

Encheu-se o vaso com solo e pesou-se (peso 2).

Adicionou-se água ao solo contido no vaso deixando a água escorrer e voltou-se a pesar (peso 3).

Finalmente, calculou-se a diferença (peso3- peso2).

#### **Ponto de emurchecimento**

É o ponto em que as plantas, mesmo a noite ou protegidas da evaporação, não recuperam mais, devido a seca que sofreram (Larcher, 1986, citado por Messa, 2005).

Para a determinação do ponto de emurchecimento permanente, primeiro semeou-se uma planta no vaso.

Determinou-se o peso do vaso mais a irrigação suficiente das planta, deixou-se crescer durante algum tempo.

Voltou a se deitar água quando a planta murchou e deixou-se crescer a planta sem deitar água até murchar e assim sucessivamente.

Quando murchou definitivamente obteve-se o ponto de emurchecimento permanente.

Resultado: conteúdo volumétrico da água = 1.391 litro.

Anexo 5

Comparações estatísticas entre os tratamentos stress e controlo

A - Clorofila a

Tete-2

summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	6	22.03047	.8653906	.7489009
Te C 4	6	19.41752	2.396951	5.745374
Te C 7	6	23.55557	2.33888	5.470358
Te S 10	5	20.49219	.9580635	.9178858
Te S 4	6	15.86582	2.193135	4.80984
Te S 7	6	18.28617	2.287899	5.234481
Total	35	19.92555	3.150773	9.927368

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	223.81419	5	44.762838	11.42	0.0000
Within groups	113.716311	29	3.92125212		
Total	337.530502	34	9.92736769		

Bartlett's test for equal variances: chi20 = 7.4429 Prob>chi2 = 0.190

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-2.61295 0.447				
Te C 7	1.5251 1.000	4.13805 0.017			
Te S 10	-1.53828 1.000	1.07467 1.000	-3.06338 0.242		
Te S 4	-6.16465 0.000	-3.5517 0.063	-7.68975 0.000	-4.62637 0.009	
Te S 7	-3.7443 0.041	-1.13135 1.000	-5.2694 0.001	-2.20602 1.000	2.42035 0.644

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-2.61295 0.411				
Te C 7	1.5251 0.874	4.13805 0.045			
Te S 10	-1.53828 0.891	1.07467 0.975	-3.06338 0.289		
Te S 4	-6.16465 0.001	-3.5517 0.120	-7.68975 0.000	-4.62637 0.027	
Te S 7	-3.7443 0.088	-1.13135 0.962	-5.2694 0.005	-2.20602 0.644	2.42035 0.497

Te- variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

**Timbawene moteado**

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	5	20.18445	1.985592	3.942576
Ti C 4	6	20.20236	1.857859	3.451641
Ti C 7	6	20.38862	1.134454	1.286987
Ti S 10	5	21.01308	1.975803	3.903797
Ti S 4	6	20.71732	2.195192	4.81887
Ti S 7	6	17.3763	2.5467	6.485679
Total	34	19.94398	2.21796	4.919348

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	50.7370936	5	10.1474187	2.55	0.0509
Within groups	111.601377	28	3.98576348		
Total	162.338471	33	4.91934761		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 2.8727$  Prob> $\chi^2 = 0.720$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	.017915 1.000				
Ti C 7	.204175 1.000	.18626 1.000			
Ti S 10	.82863 1.000	.810715 1.000	.624455 1.000		
Ti S 4	.532875 1.000	.51496 1.000	.3287 1.000	-.295755 1.000	
Ti S 7	-2.80815 0.415	-2.82607 0.311	-3.01232 0.214	-3.63678 0.083	-3.34102 0.108

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	.017915 1.000				
Ti C 7	.204175 1.000	.18626 1.000			
Ti S 10	.82863 0.994	.810715 0.993	.624455 0.998		
Ti S 4	.532875 0.999	.51496 0.999	.3287 1.000	-.295755 1.000	
Ti S 7	-2.80815 0.393	-2.82607 0.334	-3.01232 0.267	-3.63678 0.143	-3.34102 0.172

Ti- variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - nº de semanas após sementeira.

## IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	22.8984	2.656578	7.057408
IT C 4	6	23.12147	1.904768	3.628141
IT C 7	6	25.04495	2.175665	4.733518
IT S 10	6	19.26865	2.868448	8.227992
IT S 4	6	20.86837	2.576499	6.638346
IT S 7	5	19.96722	1.111437	1.235293
Total	35	21.91563	2.956769	8.742484

oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of variance SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	140.876246	5	28.1752491	5.23	0.0015
Within groups	156.368202	29	5.39200698		
Total	297.244448	34	8.74248377		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 3.7261$  Prob> $\chi^2 = 0.589$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	.223075 1.000				
IT C 7	2.14655 1.000	1.92347 1.000			
IT S 10	-3.62975 0.169	-3.85283 0.113	-5.7763 0.003		
IT S 4	-2.03003 1.000	-2.2531 1.000	-4.17658 0.062	1.59973 1.000	
IT S 7	-2.93118 0.690	-3.15425 0.490	-5.07773 0.017	.69857 1.000	-.901155 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	.223075 1.000				
IT C 7	2.14655 0.764	1.92347 0.837			
IT S 10	-3.62975 0.231	-3.85283 0.178	-5.7763 0.010		
IT S 4	-2.03003 0.804	-2.2531 0.726	-4.17658 0.118	1.59973 0.918	
IT S 7	-2.93118 0.514	-3.15425 0.432	-5.07773 0.046	.69857 0.998	-.901155 0.995

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## B - Clorofila b

## Tete-2

summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	5	10.58711	.9669761	.9350428
Te C 4	6	10.075	1.363145	1.858164
Te C 7	6	10.83178	3.544759	12.56532
Te S 10	6	9.788682	1.095399	1.199898
Te S 4	6	8.019248	1.336176	1.839215
Te S 7	6	7.810012	1.066738	1.137929
Total	35	9.488111	2.072684	4.296018

. oneway rend, trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	49.3218151	5	9.86436303	2.96	0.0282
Within groups	96.7427969	29	3.33595851		
Total	146.064612	34	4.296018		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 13.7370$ , Prob> $\chi^2 = 0.017$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.512116 1.000				
Te C 7	.244664 1.000	.75678 1.000			
Te S 10	-.798432 1.000	-.286317 1.000	-1.0431 1.000		
Te S 4	-2.56787 0.432	-2.05575 0.915	-2.81253 0.186	-1.76943 1.000	
Te S 7	-2.7771 0.268	-2.26499 0.603	-3.02177 0.115	-1.97867 1.000	-.209237 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.512116 0.999				
Te C 7	.244664 1.000	.75678 0.991			
Te S 10	-.798432 0.990	-.286317 1.000	-1.0431 0.962		
Te S 4	-2.56787 0.393	-2.05575 0.586	-2.81253 0.246	-1.76943 0.727	
Te S 7	-2.7771 0.307	-2.26499 0.480	-3.02177 0.180	-1.97867 0.625	-.209237 1.000

Te - variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## Timbawene moteado

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	5	13.10604	.9843784	.9690009
Ti C 4	6	14.50355	1.663742	2.768037
Ti C 7	6	14.07935	4.062795	16.5063
Ti S 10	5	12.50898	1.52295	2.319376
Ti S 4	6	8.763207	1.585978	2.515326
Ti S 7	6	9.093293	2.007542	4.030224
Total	34	11.9621	3.14652	9.900589

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	184.46647	5	36.8932941	7.26	0.0002
within groups	142.252954	28	5.08046266		
Total	326.719425	33	9.90058863		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 10.6812$  Prob> $\chi^2 = 0.058$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	1.39752 1.000				
Ti C 7	.973311 1.000	-.424207 1.000			
Ti S 10	-.59706 1.000	-1.99458 1.000	-1.57037 1.000		
Ti S 4	-4.34283 0.053	-5.74035 0.002	-5.31614 0.005	-3.74577 0.157	
Ti S 7	-4.01274 0.098	-5.41026 0.004	-4.98605 0.010	-3.41568 0.277	.330087 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	1.39752 0.956				
Ti C 7	.973311 0.991	-.424207 1.000			
Ti S 10	-.59706 0.999	-1.99458 0.826	-1.57037 0.929		
Ti S 4	-4.34283 0.106	-5.74035 0.008	-5.31614 0.017	-3.74577 0.220	
Ti S 7	-4.01274 0.161	-5.41026 0.015	-4.98605 0.030	-3.41568 0.312	.330087 1.000

Ti- variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.



IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	13.399	1.184929	1.404058
IT C 4	6	17.85085	1.048016	1.098337
IT C 7	5	13.5798	.6720011	.4515855
IT S 10	6	11.28117	1.766626	3.120969
IT S 4	6	14.12595	1.962817	3.852652
IT S 7	6	18.90584	1.192584	1.422257
Total	35	14.8936	3.015768	9.094855

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	252.927348	5	50.5854695	26.06	0.0000
Within groups	56.2977063	29	1.94130022		
Total	309.225054	34	9.09485452		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 5.6018$  Prob> $\chi^2 = 0.347$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	4.45184 0.000				
IT C 7	.180795 1.000	-4.27105 0.000			
IT S 10	-2.11784 0.202	-6.56968 0.000	-2.29863 0.162		
IT S 4	.726945 1.000	-3.7249 0.001	.54615 1.000	2.84478 0.021	
IT S 7	5.50684 0.000	1.05499 1.000	5.32604 0.000	7.62467 0.000	4.77989 0.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	4.45184 0.001				
IT C 7	.180795 1.000	-4.27105 0.002			
IT S 10	-2.11784 0.258	-6.56968 0.000	-2.29863 0.225		
IT S 4	.726945 0.974	-3.7249 0.005	.54615 0.994	2.84478 0.053	

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - nº de semanas após sementeira.

C - Carotenóides

Tete-2

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	5	2.140369	.3011861	.090713
Te C 4	6	2.717351	.2080394	.0432804
Te C 7	6	2.42676	.4134236	.1709191
Te S 10	6	2.577266	.5940948	.3529486
Te S 4	6	2.041627	.4844064	.2346495
Te S 7	6	1.409214	.1717476	.0294972
Total	35	2.221004	.5737551	.3291949

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	6.67329878	5	1.33465976	8.56	0.0000
within groups	4.51932644	29	.155838843		
Total	11.1926252	34	.329194859		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 9.5252$  Prob> $\chi^2 = 0.090$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	.576982 0.335				
Te C 7	.286392 1.000	-.290591 1.000			
Te S 10	.436897 1.000	-.140085 1.000	.150506 1.000		
Te S 4	-.098741 1.000	-.675723 0.090	-.385133 1.000	-.535639 0.387	
Te S 7	-.731155 0.071	-1.30814 0.000	-1.01755 0.002	-1.16805 0.000	-.632414 0.143

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	.576982 0.350				
Te C 7	.286392 0.916	-.290591 0.894			
Te S 10	.436897 0.651	-.140085 0.995	.150506 0.994		
Te S 4	-.098741 0.999	-.675723 0.153	-.385133 0.721	-.535639 0.379	
Te S 7	-.731155 0.130	-1.30814 0.000	-1.01755 0.007	-1.16805 0.001	-.632414 0.208

Te- variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

**Timbawene moteado**

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	5	.7553018	.0799733	.0063957
Ti C 4	6	1.647934	.2899065	.0840458
Ti C 7	6	1.944734	.4506395	.2030759
Ti S 10	5	1.627317	.2523002	.0636554
Ti S 4	6	2.263506	.4491699	.2017536
Ti S 7	6	9.093293	2.007542	4.030224
Total	34	2.988527	3.020936	9.126053

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	278.284048	5	55.6568097	68.12	0.0000
Within groups	22.8757035	28	.816989411		
Total	301.159752	33	9.12605309		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 43.3034$  Prob>chi2 = 0.000

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	.892632 1.000				
Ti C 7	1.18943 0.576	.2968 1.000			
Ti S 10	.872015 1.000	-.020617 1.000	-.317417 1.000		
Ti S 4	1.5082 0.153	.615572 1.000	.318772 1.000	.636189 1.000	
Ti S 7	8.33799 0.000	7.44536 0.000	7.14856 0.000	7.46598 0.000	6.82979 0.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	.892632 0.750				
Ti C 7	1.18943 0.468	.2968 0.997			
Ti S 10	.872015 0.799	-.020617 1.000	-.317417 0.997		
Ti S 4	1.5082 0.216	.615572 0.921	.318772 0.996	.636189 0.926	
Ti S 7	8.33799 0.000	7.44536 0.000	7.14856 0.000	7.46598 0.000	6.82979 0.000

Ti- variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	1.133692	.2356423	.0555273
IT C 4	6	1.293158	.2231721	.0498058
IT C 7	5	1.186556	.5402066	.2918231
IT S 10	6	1.613003	.3031456	.0918972
IT S 4	6	.1567107	4.11524	16.9352
IT S 7	6	.4623152	.4147295	.1720005
Total	35	.9681729	1.686512	2.844324

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	9.01753961	5	1.80350792	0.60	0.7028
within groups	87.6894634	29	3.0237746		
Total	96.707003	34	2.84432362		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 67.5810$  Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	.159466 1.000				
IT C 7	.052864 1.000	-.106602 1.000			
IT S 10	.479312 1.000	.319846 1.000	.426448 1.000		
IT S 4	-.976981 1.000	-1.13645 1.000	-1.02985 1.000	-1.45629 1.000	
IT S 7	-.671377 1.000	-.830842 1.000	-.724241 1.000	-1.15069 1.000	.305604 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	.159466 1.000				
IT C 7	.052864 1.000	-.106602 1.000			
IT S 10	.479312 0.999	.319846 1.000	.426448 0.999		
IT S 4	-.976981 0.964	-1.13645 0.933	-1.02985 0.963	-1.45629 0.830	
IT S 7	-.671377 0.993	-.830842 0.982	-.724241 0.992	-1.15069 0.930	.305604 1.000

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## D - Feofitina a

## Tete-2

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	5	19.14778	5.378125	28.92423
Te C 4	6	17.43623	2.658802	7.069228
Te C 7	6	15.94405	2.034285	4.138314
Te S 10	6	20.87324	2.281415	5.204854
Te S 4	6	13.93346	1.784703	3.185164
Te S 7	6	18.45079	4.373879	19.13082
Total	35	17.58759	3.785476	14.32983

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	177.87537	5	35.575074	3.34	0.0168
Within groups	309.338784	29	10.6668546		
Total	487.214153	34	14.329828		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 8.7982$  Prob> $\chi^2 = 0.117$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-1.71154 1.000				
Te C 7	-3.20373 1.000	-1.49219 1.000			
Te S 10	1.72546 1.000	3.43701 1.000	4.92919 0.211		
Te S 4	-5.21432 0.200	-3.50277 1.000	-2.01059 1.000	-6.93978 0.014	
Te S 7	-.696989 1.000	1.01455 1.000	2.50674 1.000	-2.42245 1.000	4.51733 0.349

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-1.71154 0.978				
Te C 7	-3.20373 0.755	-1.49219 0.986			
Te S 10	1.72546 0.978	3.43701 0.653	4.92919 0.266		
Te S 4	-5.21432 0.257	-3.50277 0.635	-2.01059 0.948	-6.93978 0.040	
Te S 7	-.696989 1.000	1.01455 0.998	2.50674 0.876	-2.42245 0.891	4.51733 0.358

Te- variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

**Timbawene moteado**

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	5	17.72922	1.212723	1.470697
Ti C 4	6	21.51567	2.247856	5.052855
Ti C 7	6	17.40671	2.158773	4.6603
Ti S 10	5	19.91591	.9497264	.9019802
Ti S 4	6	17.25057	1.619188	2.621771
Ti S 7	6	16.91365	2.546732	6.485845
Total	34	18.43368	2.478038	6.140673

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	99.0476534	5	19.8095307	5.35	0.0014
Within groups	103.594566	28	3.69980593		
Total	202.64222	33	6.14067332		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 5.1085$  Prob> $\chi^2 = 0.403$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	3.78644 0.045				
Ti C 7	-.32251 1.000	-4.10895 0.014			
Ti S 10	2.18669 1.000	-1.59976 1.000	2.5092 0.600		
Ti S 4	-.478649 1.000	-4.26509 0.010	-.15614 1.000	-2.66534 0.448	
Ti S 7	-.815576 1.000	-4.60202 0.004	-.493066 1.000	-3.00227 0.233	-.336927 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	3.78644 0.093				
Ti C 7	-.32251 1.000	-4.10895 0.039			
Ti S 10	2.18669 0.667	-1.59976 0.860	2.5092 0.478		
Ti S 4	-.478649 0.999	-4.26509 0.029	-.15614 1.000	-2.66534 0.410	
Ti S 7	-.815576 0.992	-4.60202 0.015	-.493066 0.999	-3.00227 0.281	-.336927 1.000

Ti - variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	17.7902	2.734266	7.476213
IT C 4	6	21.45787	1.580801	2.498932
IT C 7	5	18.79112	1.462856	2.139947
IT S 10	6	22.95379	3.078722	9.478527
IT S 4	6	17.59476	2.263945	5.125447
IT S 7	6	23.08855	1.602754	2.568819
Total	35	20.3219	3.135781	9.833123

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	190.026717	5	38.0053434	7.64	0.0001
Within groups	144.299474	29	4.97584392		
Total	334.326191	34	9.83312325		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 4.3650$  Prob> $\chi^2 = 0.498$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	3.66767 0.120				
IT C 7	1.00092 1.000	-2.66675 0.869			
IT S 10	5.16359 0.006	1.49592 1.000	4.16267 0.067		
IT S 4	-.19544 1.000	-3.86311 0.083	-1.19636 1.000	-5.35903 0.004	
IT S 7	5.29835 0.004	1.63068 1.000	4.29743 0.052	.13476 1.000	5.49379 0.003

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	3.66767 0.186				
IT C 7	1.00092 0.989	-2.66675 0.573			
IT S 10	5.16359 0.020	1.49592 0.926	4.16267 0.125		
IT S 4	-.19544 1.000	-3.86311 0.144	-1.19636 0.976	-5.35903 0.014	
IT S 7	5.29835 0.016	1.63068 0.896	4.29743 0.105	.13476 1.000	5.49379 0.011

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## E - Feofitina b

## Tete-2

summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	5	7.32494	1.699083	2.886882
Te C 4	6	7.341733	1.661392	2.760222
Te C 7	6	5.48885	1.368421	1.872575
Te S 10	6	7.616987	.6802477	.4627369
Te S 4	6	6.2384	1.781673	3.17436
Te S 7	6	6.50395	.5274983	.2782544
Total	35	6.736117	1.475502	2.177107

oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	19.7333599	5	3.94667197	2.11	0.0929
within groups	54.2882698	29	1.8720093		
Total	74.0216296	34	2.17710675		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 9.4382$  Prob> $\chi^2 = 0.093$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	.016793 1.000				
Te C 7	-1.83609 0.520	-1.85288 0.391			
Te S 10	.292027 1.000	.275233 1.000	2.12812 0.174		
Te S 4	-1.08654 1.000	-1.10333 1.000	.74955 1.000	-1.37857 1.000	
Te S 7	-.82099 1.000	-.837783 1.000	1.0151 1.000	-1.11302 1.000	.26555 1.000

Comparison of rend by trat  
(scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	.016793 1.000				
Te C 7	-1.83609 0.445	-1.85288 0.382			
Te S 10	.292027 1.000	.275233 1.000	2.12812 0.236		
Te S 4	-1.08654 0.882	-1.10333 0.851	.74955 0.968	-1.37857 0.694	
Te S 7	-.82099 0.961	-.837783 0.949	1.0151 0.891	-1.11302 0.847	.26555 1.000

Te- variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.



**Timbawene moteado**

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	5	11.18271	1.335869	1.784545
Ti C 4	6	8.48755	1.196199	1.430893
Ti C 7	6	7.67645	1.69595	2.876247
Ti S 10	5	8.37146	2.453825	6.021257
Ti S 4	6	14.51608	3.838223	14.73196
Ti S 7	6	8.190367	2.570929	6.609674
Total	34	9.735104	3.327903	11.07494

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	206.005947	5	41.2011894	7.23	0.0002
within groups	159.467076	28	5.69525271		
Total	365.473023	33	11.0749401		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 8.5265$  Prob> $\chi^2 = 0.130$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-2.69516 1.000				
Ti C 7	-3.50626 0.329	-.8111 1.000			
Ti S 10	-2.81125 1.000	-.11609 1.000	.69501 1.000		
Ti S 4	3.33338 0.430	6.02853 0.002	6.83963 0.000	6.14462 0.003	
Ti S 7	-2.99234 0.716	-.297184 1.000	.513917 1.000	-.181093 1.000	-6.32572 0.001

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-2.69516 0.631				
Ti C 7	-3.50626 0.345	-.8111 0.996			
Ti S 10	-2.81125 0.632	-.11609 1.000	.69501 0.999		
Ti S 4	3.33338 0.401	6.02853 0.009	6.83963 0.002	6.14462 0.012	
Ti S 7	-2.99234 0.521	-.297184 1.000	.513917 1.000	-.181093 1.000	-6.32572 0.006

Ti - variedade Timbawene moteado Tete-2 IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	7.896683	.8952812	.8015284
IT C 4	6	9.40855	1.532384	2.3482
IT C 7	5	10.30716	1.542693	2.379901
IT S 10	6	9.69385	1.564622	2.448043
IT S 4	6	13.95698	2.835249	8.038636
IT S 7	6	12.92485	1.255052	1.575156
Total	35	10.70918	2.672992	7.144884

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	157.348638	5	31.4697276	10.66	0.0000
within groups	85.5774202	29	2.95094552		
Total	242.926058	34	7.14488407		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 7.0135$  Prob> $\chi^2 = 0.220$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	1.51187 1.000				
IT C 7	2.41048 0.416	.89861 1.000			
IT S 10	1.79717 1.000	.2853 1.000	-.61331 1.000		
IT S 4	6.0603 0.000	4.54843 0.001	3.64982 0.022	4.26313 0.003	
IT S 7	5.02817 0.000	3.5163 0.020	2.61769 0.265	3.231 0.043	-1.03213 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	1.51187 0.799				
IT C 7	2.41048 0.395	.89861 0.979			
IT S 10	1.79717 0.659	.2853 1.000	-.61331 0.996		
IT S 4	6.0603 0.000	4.54843 0.005	3.64982 0.056	4.26313 0.010	
IT S 7	5.02817 0.002	3.5163 0.052	2.61769 0.305	3.231 0.091	-1.03213 0.953

IT - variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

F - Prolina

Tete-2

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	6	.0067855	.0004001	1.60e-07
Te C 4	6	.0057145	.0005845	3.42e-07
Te C 7	6	.0070899	.0016533	2.73e-06
Te S 10	6	.0125587	.0003339	1.11e-07
Te S 4	6	.0082453	.0010578	1.12e-06
Te S 7	6	.0109558	.0014134	2.00e-06
Total	36	.0085583	.0026389	6.96e-06

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.000211412	5	.000042282	39.25	0.0000
Within groups	.000032315	30	1.0772e-06		
Total	.000243727	35	6.9636e-06		

Bartlett's test for equal variances: chi20 = 17.3332 Prob>chi2 = 0.004

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.001071 1.000				
Te C 7	.000304 1.000	.001375 0.433			
Te S 10	.005773 0.000	.006844 0.000	.005469 0.000		
Te S 4	.00146 0.315	.002531 0.003	.001155 0.950	-.004313 0.000	
Te S 7	.00417 0.000	.005241 0.000	.003866 0.000	-.001603 0.180	.002711 0.001

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.001071 0.672				
Te C 7	.000304 0.998	.001375 0.405			
Te S 10	.005773 0.000	.006844 0.000	.005469 0.000		
Te S 4	.00146 0.339	.002531 0.012	.001155 0.597	-.004313 0.000	
Te S 7	.00417 0.000	.005241 0.000	.003866 0.000	-.001603 0.242	.002711 0.006

Te - variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

**Timbawene moteado**

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	6	.007398	.0014313	2.05e-06
Ti C 4	6	.0047205	.0006096	3.72e-07
Ti C 7	6	.0062573	.0008711	7.59e-07
Ti S 10	6	.0111832	.0018	3.24e-06
Ti S 4	6	.0089275	.0014094	1.99e-06
Ti S 7	6	.0107981	.00042	1.76e-07
Total	36	.0082141	.0026138	6.83e-06

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.000196212	5	.000039242	27.44	0.0000
Within groups	.00004291	30	1.4303e-06		
Total	.000239123	35	6.8321e-06		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 11.9202$  Prob>ch12 = 0.036

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-.002678 0.008				
Ti C 7	-.001141 1.000	.001537 0.505			
Ti S 10	.003785 0.000	.006463 0.000	.004926 0.000		
Ti S 4	.001529 0.517	.004207 0.000	.00267 0.008	-.002256 0.041	
Ti S 7	.0034 0.000	.006078 0.000	.004541 0.000	-.000385 1.000	.001871 0.166

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-.002678 0.026				
Ti C 7	-.001141 0.740	.001537 0.440			
Ti S 10	.003785 0.001	.006463 0.000	.004926 0.000		
Ti S 4	.001529 0.445	.004207 0.000	.00267 0.026	-.002256 0.088	
Ti S 7	.0034 0.002	.006078 0.000	.004541 0.000	-.000385 0.997	.001871 0.230

Ti- variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	.0064847	.0007973	6.36e-07
IT C 4	6	.0055861	.0012893	1.66e-06
IT C 7	6	.0069616	.0008645	7.47e-07
IT S 10	6	.0118435	.0009664	9.34e-07
IT S 4	6	.0085607	.0004121	1.70e-07
IT S 7	6	.0107614	.0014367	2.06e-06
Total	36	.0083663	.0024941	6.22e-06

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.000186649	5	.00003733	36.05	0.0000
within groups	.000031065	30	1.0355e-06		
Total	.000217714	35	6.2204e-06		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 7.2469$  Prob> $\chi^2 = 0.203$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	-.000899 1.000				
IT C 7	.000477 1.000	.001375 0.391			
IT S 10	.005359 0.000	.006257 0.000	.004882 0.000		
IT S 4	.002076 0.020	.002975 0.000	.001599 0.161	-.003283 0.000	
IT S 7	.004277 0.000	.005175 0.000	.0038 0.000	-.001082 1.000	.002201 0.011

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	-.000899 0.797				
IT C 7	.000477 0.984	.001375 0.383			
IT S 10	.005359 0.000	.006257 0.000	.004882 0.000		
IT S 4	.002076 0.053	.002975 0.002	.001599 0.225	-.003283 0.000	
IT S 7	.004277 0.000	.005175 0.000	.0038 0.000	-.001082 0.643	.002201 0.034

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

G - Proteína

Tete-2

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Te C 10	6	.3670737	.0293856	.0008635
Te C 4	6	.3206885	.0166284	.0002765
Te C 7	6	.3432147	.0083799	.0000702
Te S 10	6	.2238889	.0175484	.0003079
Te S 4	6	.2734251	.0547973	.0030027
Te S 7	6	.2313271	.0159868	.0002556
Total	36	.2932697	.0610173	.0037231

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.106426278	5	.021285256	26.74	0.0000
Within groups	.023882513	30	.000796084		
Total	.130308791	35	.003723108		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2_0 = 19.3110$  Prob> $\chi^2 = 0.002$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.046385 0.118				
Te C 7	-.023859 1.000	.022526 1.000			
Te S 10	-.143185 0.000	-.0968 0.000	-.119326 0.000		
Te S 4	-.093649 0.000	-.047263 0.103	-.06979 0.003	.049536 0.073	
Te S 7	-.135747 0.000	-.089361 0.000	-.111888 0.000	.007438 1.000	-.042098 0.223

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Te C 10	Te C 4	Te C 7	Te S 10	Te S 4
Te C 4	-.046385 0.185				
Te C 7	-.023859 0.825	.022526 0.857			
Te S 10	-.143185 0.000	-.0968 0.000	-.119326 0.000		
Te S 4	-.093649 0.000	-.047263 0.169	-.06979 0.010	.049536 0.133	
Te S 7	-.135747 0.000	-.089361 0.001	-.111888 0.000	.007438 0.999	-.042098 0.276

Te - variedade Tete-2

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## Timbawene moteado

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
Ti C 10	6	.371206	.0326258	.0010644
Ti C 4	6	.3167111	.0208998	.0004368
Ti C 7	6	.3533337	.012642	.0001598
Ti S 10	6	.1943945	.0104998	.0001102
Ti S 4	6	.2873716	.0094197	.0000887
Ti S 7	6	.2144362	.0178348	.0003181
Total	36	.2895755	.06927	.0047983

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.157051075	5	.031410215	86.52	0.0000
Within groups	.010890586	30	.00036302		
Total	.16794166	35	.004798333		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 10.6348$  Prob> $\chi^2 = 0.059$

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-.054495 0.000				
Ti C 7	-.017872 1.000	.036623 0.035			
Ti S 10	-.176812 0.000	-.122317 0.000	-.158939 0.000		
Ti S 4	-.083834 0.000	-.029339 0.183	-.065962 0.000	.092977 0.000	
Ti S 7	-.15677 0.000	-.102275 0.000	-.138897 0.000	.020042 1.000	-.072935 0.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	Ti C 10	Ti C 4	Ti C 7	Ti S 10	Ti S 4
Ti C 4	-.054495 0.002				
Ti C 7	-.017872 0.753	.036623 0.079			
Ti S 10	-.176812 0.000	-.122317 0.000	-.158939 0.000		
Ti S 4	-.083834 0.000	-.029339 0.245	-.065962 0.000	.092977 0.000	
Ti S 7	-.15677 0.000	-.102275 0.000	-.138897 0.000	.020042 0.654	-.072935 0.000

Ti- variedade Timbawene moteado

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.

## IT82E-18

Summary for variables: rend  
by categories of: trat

trat	N	mean	sd	variance
IT C 10	6	.4446579	.0277029	.0007674
IT C 4	6	.2527118	.0223171	.0004981
IT C 7	6	.3277134	.0098885	.0000978
IT S 10	6	.2327734	.0194346	.0003777
IT S 4	6	.2179487	.0146806	.0002155
IT S 7	6	.2381454	.012831	.0001646
Total	36	.2856585	.0823319	.0067785

. oneway rend trat, bonferroni scheffe sidak

Source	Analysis of Variance			F	Prob > F
	SS	df	MS		
Between groups	.226643164	5	.045328633	128.22	0.0000
Within groups	.010605712	30	.000353524		
Total	.237248876	35	.006778539		

Bartlett's test for equal variances:  $\chi^2(5) = 6.3106$  Prob>chi2 = 0.277

Comparison of rend by trat  
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	-.191946 0.000				
IT C 7	-.116945 0.000	.075002 0.000			
IT S 10	-.211885 0.000	-.019938 1.000	-.09494 0.000		
IT S 4	-.226709 0.000	-.034763 0.048	-.109765 0.000	-.014825 1.000	
IT S 7	-.206513 0.000	-.014566 1.000	-.089568 0.000	.005372 1.000	.020197 1.000

Comparison of rend by trat  
(Scheffe)

Row Mean- Col Mean	IT C 10	IT C 4	IT C 7	IT S 10	IT S 4
IT C 4	-.191946 0.000				
IT C 7	-.116945 0.000	.075002 0.000			
IT S 10	-.211885 0.000	-.019938 0.646	-.09494 0.000		
IT S 4	-.226709 0.000	-.034763 0.100	-.109765 0.000	-.014825 0.863	
IT S 7	-.206513 0.000	-.014566 0.872	-.089568 0.000	.005372 0.998	.020197 0.633

IT- variedade IT82E-18

C - controlo

S - stress

4, 7 e 10 - n° de semanas após sementeira.



## Anexo 6

## Análise de regressão entre conteúdo de prolina e de proteína

summary output

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.70571
R Square	0.498027
Adjusted R Square	0.466653
Standard Error	0.001766
Observations	18

## ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	4.95E-05	4.95E-05	15.87421	0.001067
Residual	16	4.99E-05	3.12E-06		
Total	17	9.94E-05			