



BEATRIZ GONÇALVES PEREIRA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE
CULTIVARES DE FEIJÃO SUBMETIDOS A HIPOXIA EM
DIFERENTES FASES FENOLÓGICAS**

LAVRAS – MG

2019

BEATRIZ GONÇALVES PEREIRA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE CULTIVARES DE
FEIJÃO SUBMETIDOS A HIPOXIA EM DIFERENTES FASES FENOLÓGICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Bioquímica, Nutrição e Metabolismo de Plantas, para a obtenção do Título de Mestre.

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Orientador

LAVRAS – MG

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Costa, Beatriz Gonçalves Pereira.

Caracterização fisiológica e bioquímica de cultivares de feijão submetidos a hipóxia em diferentes fases fenológicas / Beatriz Gonçalves Pereira Costa. - 2019.

59 p. : il.

Orientador(a): Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Hipóxia. 2. Fases fenológicas. 3. feijoeiro. I. Marchiori, Paulo Eduardo Ribeiro. II. Título.

BEATRIZ GONÇALVES PEREIRA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE CULTIVARES DE
FEIJÃO SUBMETIDOS A HIPOXIA EM DIFERENTES FASES FENOLÓGICAS**

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF BEAN
CULTIVARS SUBMITTED TO HYPOXIA IN DIFFERENT PHENOLOGICAL
PHASES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Bioquímica, Nutrição e Metabolismo de Plantas, para a obtenção do Título de Mestre.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2019.

Dr^a. Elisa Monteze Bicalho UFLA

Dr^a. Sara Adrián López de Andrade

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Orientador

LAVRAS-MG

2019

*À minha mãe Margarete por todo amor, carinho e paciência dedicado ao longo de
todo o meu caminho e por ser meu maior exemplo de vida.*

A minha avó Isabel por estar sempre ao meu lado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é demonstrar a necessidade que temos do outro. É quando admitimos que não teríamos chegado sozinho aonde estamos.

Assim, agradeço a Deus por me dar proteção e força ao longo dessa jornada. Nos momentos em que pensei em desistir foi o seu amor por mim que me manteve de pé.

À minha família, por acreditar e me dar a oportunidade de seguir meus sonhos. Além de todo o amor, paciência e amizade. Os poucos dias nesses dois anos em que pude estar com vocês me revigoraram.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori, pela orientação, atenção, confiança e conselhos oferecidos ao longo desses dois anos.

Aos alunos do programa, que hoje posso chamar de amigos: Lissa, Bárbara, Iasminy, Cássio, Mário e Ludmila. Obrigada por todo apoio, sorrisos e broncas ao longo deste caminho.

A Dr. Débora Domiciano, por toda ajuda ao longo da produção desta dissertação.

Ao Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas por ser meu lar nesta instituição além de ser a maior fonte de apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Aos professores e funcionários do Setor de Fisiologia Vegetal da UFLA, pela dedicação, contribuição e convivência.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais importantes cultivadas no Brasil para consumo humano, por ser uma importante fonte de proteína, carboidratos e ricos em vários minerais. Em situação de alagamento, a disponibilidade de oxigênio pode proporcionar uma condição de anoxia ou hipóxia. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia em diferentes fases fenológicas analisando as respostas das mesmas em relação ao crescimento e produção, trocas gasosas, metabolismo de carboidratos e assimilação de nitrato. Desta maneira, sementes de feijão comum foram semeadas ao atingirem o estágio de desenvolvimento V1 foram transferidas para recipientes contendo quarenta litros de solução nutritiva e aeração constante. Com o objetivo de avaliar a fase fenológica de maior susceptibilidade do feijoeiro à hipóxia no sistema radicular, lotes distintos de plantas foram expostos a condição de falta de aeração em três diferentes fases fenológicas. Após a aeração foi restaurada e as plantas puderam atingir o final do ciclo produtivo. Foram consideradas as fases fenológicas V3/V4 (surgimento da terceira folha trifoliada), R6 (abertura da primeira flor) e R7 (aparecimento das primeiras vagens). Para tanto, foi retirada a aeração da solução nutritiva de determinados recipientes, enquanto outros permaneceram com aeração para serem usados como referência. Após 9 dias de hipóxia nas fases fenológicas V3/V4, R6 e R7 coletou-se 6 repetições de plantas de cada tratamento para as análises bioquímicas e de crescimento. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Ambas as cultivares submetidas a baixa disponibilidade de oxigênio apresentaram redução no número de grãos, sendo em V3/V4 a maior perda em produção conferindo maior sensibilidade a hipóxia nesta fase. Diminuição nas trocas gasosas em todas as fases fenológicas além da diminuição nos teores de pigmentos na cultivar BRSMG-Uai. Na fase fenológica R7 a cultivar BRSMG-Majestoso apresentou aumento nos teores de pigmentos. Em contrapartida, ocorreu aumento na concentração de açúcares nas folhas de ambas as cultivares devido a diminuição da translocação desses fotoassimilados para os drenos (grãos e raízes). A cultivar BRSMG-Uai apresentou nas folhas, aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio, enquanto que a cultivar BRSMG-Majestoso apenas apresentou aumento na fase fenológica R6. Ambas as cultivares apresentaram aumento no conteúdo de peróxido de hidrogênio em raízes. A diminuição da atividade da enzima SOD ocorreu nas fases fenológicas V3/V4, R6 e R7 de ambas as cultivares. A atividade da CAT aumentou apenas na cultivar BRSMG-Majestoso em R7. Já a enzima APX, mostrou aumento na atividade em raiz na cultivar BRSMG-Uai em R6 e na cultivar BRSMG-Majestoso em R7 nas folhas e raízes. A peroxidação lipídica da cultivar BRSMG-Uai, mostrou aumento em folhas e raízes das três fases fenológicas. Na cultivar BRSMG-Majestoso, apenas V3/V4 apresentou aumento de peroxidação lipídica nas folhas e raízes. Ambas as cultivares apresentaram aumento da atividade da enzima Redutase do Nitrato. Conclui-se que a cultivar BRSMG-Uai apresentou maior sensibilidade a baixa disponibilidade de oxigênio, e a fase fenológica V3/V4 é a mais crítica para ambas as cultivares submetidas a hipóxia.

Palavras-chave: Hipóxia. BRSMG-Uai. BRSMG-Majestoso. Fases fenológicas.

ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important leguminous grown in Brazil for human consumption, being an important source of protein, carbohydrates and rich in various minerals. In flooding situation, the availability of oxygen can provide a condition of anoxia or hypoxia. The present work aims to evaluate the behavior of BRSMG-Uai and BRSMG-Majestoso cultivars submitted to hypoxia in different phenological phases, analyzing their responses in relation to growth and production, gas exchange, carbohydrate metabolism and nitrate assimilation. In this way, common bean seeds were sown when they reached the V1 development stage and were transferred to containers containing 40 liters of nutrient solution and constant aeration. With the objective of evaluating the phenological phase of greater susceptibility of common bean to hypoxia in the root system, distinct lots of plants were exposed to a lack of aeration condition in three different phenological phases. After aeration it was restored and the plants were able to reach the end of the productive cycle. Phenological phases V3/V4 (appearance of the third trifoliate leaf), R6 (opening of the first flower) and R7 (appearance of the first pods) were considered. In order to do so, the aeration of the nutrient solution was withdrawn from certain containers, while others were aerated to be used as reference. After 9 days of hypoxia in the phenological phases V3/V4, R6 and R7 6 plant replicates of each treatment were collected for the biochemical and growth analyzes. The experiment was conducted in a completely randomized design. Both cultivars submitted to low oxygen availability presented a reduction in the number of grains, being in V3/V4 the greatest loss in production, giving greater sensitivity to hypoxia in this phase. Reduction in gas exchange in all phenological phases besides the decrease in pigment levels in the cultivar BRSMG-Uai. In the phenological phase R7 the cultivar BRSMG-Majestoso showed increase in the pigment contents. On the other hand, there was an increase in the sugar concentration in the leaves of both cultivars due to the reduced translocation of these photoassimilates to the drains (grains and roots). The cultivar BRSMG-Uai presented in leaves, increase in the content of hydrogen peroxide, whereas the cultivar BRSMG-Majestic presented only increase in phenological phase R6. Both cultivars presented increase in the content of hydrogen peroxide in roots. The decrease of the SOD enzyme activity occurred in the phenological phases V3/V4, R6 and R7 of both cultivars. CAT activity increased only in BRSMG-Majestoso cultivar at R7. On the other hand, the APX enzyme showed increased root activity in the cultivar BRSMG-Uai in R6 and in BRSMG-Majestoso cultivar R7 in leaves and roots. The lipid peroxidation of the cultivar BRSMG-Uai showed increase in leaves and roots of the three phenological phases. In the cultivar BRSMG-Majestic, only V3/V4 presented increase of lipid peroxidation in the leaves and roots. Both cultivars presented increased activity of the Nitrate Reductase enzyme. It was concluded that the cultivar BRSMG-Uai presented greater sensitivity to low oxygen availability, and the phenolic phase V3 / V4 is the most critical for both cultivars submitted to hypoxia.

Keywords: Hypoxia. BRSMG-Uai. BRSMG-Majestoso. Phenological Phases.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Condução do Experimento	17
3.2 Análises biométricas	20
3.3 Trocas gasosas	20
3.4 Determinação de pigmentos fotossintéticos	20
3.5 Determinação de carboidratos, proteínas e aminoácidos.....	20
3.6 Determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante	21
3.7 Determinação do conteúdo de peróxido de Hidrogênio e malondialdeído.....	22
3.8 Determinação da atividade da enzima Redutase do Nitrato	22
3.9 Análise Estatística	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) é uma cultura de grande importância na alimentação da população brasileira. Além de apresentar um importante papel econômico-social por ser cultivado por agricultores familiares. Atualmente a cultura do feijão vem ganhando cada vez mais visibilidade entre os grandes produtores de grãos do país.

Estresses abióticos como altas e baixas temperaturas, metais pesados, salinidade e a seca e o alagamento estão entre os aspectos que mais afetam a produtividade das culturas (CHOUDHURY et al., 2013). O excesso de água no solo é a principal causa da baixa disponibilidade de oxigênio para o sistema radicular e pode ser provocado por problemas de drenagem causada por excesso de chuvas ou solos de várzea. A respiração aeróbica de plantas e microrganismos sob essa condição reduz ainda mais a concentração de oxigênio do solo, levando este a hipóxia (baixa concentração de oxigênio) ou anoxia (ausência de oxigênio).

A exploração de solos propensos ao alagamento com espécies de importância econômica depende da identificação não somente de plantas que possam sobreviver sob condições de baixa disponibilidade de oxigênio do solo, mas que também apresentem eficiente produção capaz de trazer retorno econômico ao produtor. A produtividade das culturas agrícolas depende diretamente de grande aporte de carboidratos até o órgãos de interesse, que por sua vez é dependente de uma eficiente fotossíntese. No entanto, o processo fotossintético é afetado de diferentes maneiras em consequência da hipóxia no sistema radicular.

Esta situação de baixa disponibilidade de oxigênio no solo devido ao alagamento exige que a planta recorra a alterações bioquímicas e morfológicas para garantir sua sobrevivência, mesmo sob condição de economia energética. Para tanto, espera-se que as plantas apresentem um adequado sistema antioxidante para a proteção das células contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio formada sob anaerobiose.

Cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) submetidas ao alagamento podem sofrer uma diminuição na produtividade devido as alterações fisiológicas necessárias para garantir a sobrevivência da planta. Sabe-se que os prejuízos causados hipóxia pode variar em função dos estádios fenológicos em que as plantas se encontram no momento da interação com o agente estressor. Quando a hipóxia acontece durante as fases vegetativas poderá ocorrer diminuição no acúmulo de biomassa necessária para o estágio reprodutivo; porém quando ocorre nos estádios reprodutivos, pode haver encurtamento do período de formação dos botões florais e diminuição na produtividade durante a fase de enchimento de grãos. Estas alterações metabólicas, que

podem resultar em perda de produtividade, são consequências da dificuldade de manutenção adequada do metabolismo aeróbico e produção de energia suficiente no sistema radicular, uma vez que falta oxigênio como aceptor final de elétrons. Nesta situação a planta inicia uma aclimatação bioquímica anaeróbica através da rota fermentativa. Além de expressar proteínas específicas para a ativação da rota anaeróbica nas raízes, ocorrem alterações nas trocas gasosas e na geração de espécies reativas de oxigênio.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento das cultivares de feijoeiro BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso quando submetidas a hipóxia em diferentes fases fenológicas. Foram avaliadas as respostas em relação às trocas gasosas, metabolismo de carboidratos, metabolismo antioxidante, assimilação de nitrato e crescimento e produção.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

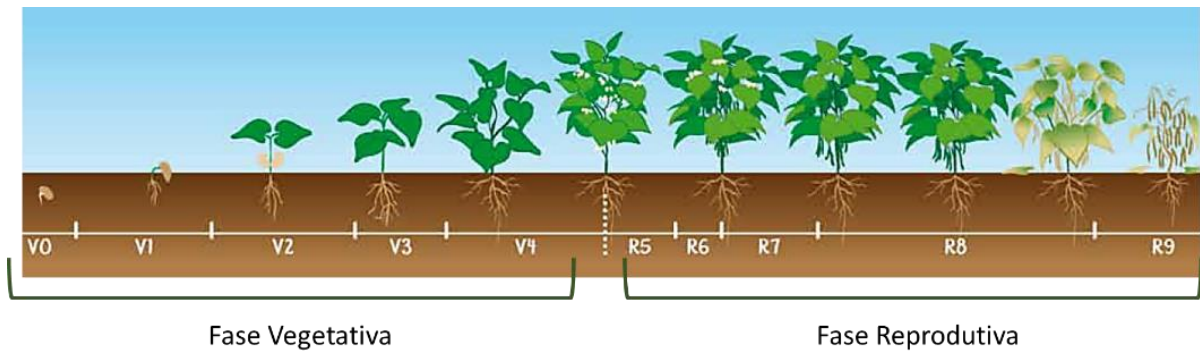
O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) está entre os principais alimentos da população brasileira por ser uma importante fonte de proteínas, carboidratos e ricos em minerais (CARBONELL et al. 2014). A produtividade média nacional é de 1,58 t ha⁻¹, sendo o consumo médio per capita de 16 kg habitante⁻¹ ano⁻¹ (CONAB, 2018). A produtividade do feijão no estado de Minas Gerais vem aumentando a cada ano, desta forma o estado tornou-se o maior produtor de grãos secos do Brasil (CONAB, 2018). No entanto, a produção ainda é instável ao longo das safras devido a diversos fatores, como os estresses ambientais (CARBONELL et al. 2014).

No Brasil, o cultivo de feijão ocorre de Norte a Sul, em diferentes épocas e sistemas de plantio, ocorrendo no sistema solteiro ou consorciado. Além de um importante papel na alimentação da população brasileira, o feijão é um dos produtos agrícolas de maior importância econômico-social, sendo cultivado principalmente na agricultura familiar. A mão de obra empregada durante o ciclo da cultura, especialmente na época da colheita, que na maioria das vezes é manual também colabora para essa importância econômico-social. O cultivo de feijão também é realizado por grandes produtores que utilizam tecnologias avançadas, como controle fitossanitário, colheita mecanizada e irrigação (FERREIRA, 2004).

O feijão comum (*P. vulgaris*) é uma planta anual herbácea, pertencente à família Fabaceae, que possui dois tipos de folhas: as simples ou primárias, que são opostas, e as folhas compostas, constituídas de três folíolos (trifoliadas), com disposição alternada. O caule (haste) é herbáceo, constituído por um eixo principal, formado por uma sucessão de nós e entrenós. As flores são completas e agrupam-se em racemos, que nascem nas axilas das folhas e podem apresentar coloração branca, rósea ou violeta. O desenvolvimento da planta de feijão é dividido em duas fases: uma fase vegetativa (V), constituída pelas etapas V0, V1, V2, V3/V4 e V4 e uma fase reprodutiva (R), constituída pelas etapas R5, R6, R7, R8 e R9 (OLIVEIRA, 2018).

As etapas vegetativas do feijão (FIGURA 1) correspondem à germinação e emergência (V0); cotilédones ao nível do solo (V1); folhas primárias expandidas (V2); primeira folha trifoliada (V3/V4) e terceira folha trifoliada (V4). Já as etapas reprodutivas são: aparecimento dos primeiros botões florais (R5); abertura da primeira flor (R6); aparecimento das primeiras vagens (R7); primeiras vagens cheias (R8) e modificação da cor das vagens resultante da maturidade fisiológica (R9) (OLIVEIRA, 2018).

Figura 1 - Fases fenológicas de plantas de feijão.



Fonte: OLIVEIRA, 2018.

Os consumidores do Brasil preferem o feijão comum com grão carioca (bege com faixa marrom). Desta forma nos últimos anos foi recomendada uma série de cultivares melhoradas, fruto de um esforço conjunto da EMBRAPA, instituições estaduais de pesquisa, universidades, cooperativas, empresas privadas e produtores rurais, desenvolvendo novas cultivares com grão tipo carioca, combinando boa produtividade e resistência a estresses e a doenças (CARBONELL et al., 2014).

Um importante fator de estresse abiótico é o alagamento do solo, que induz grande limitação ao rendimento das culturas. O excesso de água pode levar a modificações metabólicas capazes de interferir na arquitetura e produtividade das plantas (IRFAN et al., 2010). Assim, as mudanças climáticas globais tendem a agravar os problemas relacionados ao alagamento do solo em um futuro próximo, uma vez que as temperaturas globais do ar vêm aumentando desde 1850 (ARNELL; GOSLING 2014). Um dos principais efeitos na variação da temperatura média global é a alteração nos padrões de chuva em muitas regiões do mundo. Isto acarretará em maior probabilidade de encharcamento e inundações do solo por conta de eventos extremos de chuvas (DEBORTOLI, 2017). Além disso, como alternativa para agricultura comercial, as lavouras de feijão passaram a ser irrigadas e quando esta prática ocorre de forma descontrolada e excessiva, pode causar o encharcamento dos solos (FERREIRA, 2004).

No Brasil, existem poucos estudos sobre a influência do alagamento nas diferentes fases fenológicas do feijoeiro. Nesta condição de ambiente, os níveis de oxigênio são reduzidos, causando alterações físico químicas no solo afetando a respiração aeróbica das raízes e variação na disponibilidade e absorção de nutrientes, refletindo na baixa produção de energia, havendo desta forma produção de lactato e etanol (VARTAPETIAN; JACKSON, 1997). A redução da energia disponível, afeta o metabolismo, o crescimento e consequentemente a produtividade vegetal (LIAO; LIN, 2001).

As plantas são capazes de desenvolver mecanismos fisiológicos, anatômicos e morfológicos responsáveis pela prevenção do estresse causado pelo alagamento. A exemplo disso, observa-se modificações estruturais nas raízes, que passam a apresentar aerênquimas no córtex, associado à inibição da formação de pelos radiculares e, então, o crescimento. Caso a condição de alagamento seja prolongada, as raízes tornam-se escuras e entram em processo de necrose. Concomitantemente na parte aérea é possível observar redução no crescimento, murcha, clorose e senescência foliar junto com a formação de raízes adventícias e lenticelas no caule (SILVA, 1984). Essas respostas morfológicas ocorrem por causa da redução na disponibilidade de oxigênio para as células das raízes e nesta condição o ATP produzido nas células das raízes é proveniente somente da glicólise (GILL e TUTEJA, 2010).

De acordo com as diferentes respostas das plantas ao excesso de água, elas podem tolerar desde horas até dias de estresse (VARTAPETIAN; JACKSON, 1997). Diante desta baixa disponibilidade de oxigênio, não há manutenção do metabolismo aeróbico e produção de energia suficiente, pela falta de acceptor de elétrons ao final da cadeia de transporte de elétrons. Desta forma, a planta inicia aclimatação bioquímica anaeróbica através da rota fermentativa, diminuindo a produção de ATP e poder redutor resultantes da respiração aeróbica. Este mecanismo busca manter taxas de metabolismo basal para sustentar a sobrevivência da planta sob economia de energia (IRFAN et al., 2010). Estas vias são as únicas fontes de energia para atender a demanda metabólica nestas plantas e dependem da expressão de proteínas específicas de estresse anaeróbico (LIAO; LIN, 2001). Estas proteínas estão relacionadas, em sua maioria, com a glicólise e o metabolismo de açúcares-fosfato, tais como piruvato descarboxilase, aldolases, enolases, glicose-6-fosfato isomerase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, sacarose sintase e álcool desidrogenase (SUBBAIAH; SACHS, 2003).

Em condições anaeróbicas, de um modo geral, há uma potencialização da glicólise, uma vez que esta via produz menos energia (2 ATPs) quando comparada a via aeróbica (38 ATPs). Este baixo rendimento energético do metabolismo anaeróbico pode ser compensado pela aceleração da glicólise, conhecido como “efeito Pasteur”, para satisfazer à demanda por ATP (SUMMER; RATICLIFE; JACKSON, 2000). Em algumas espécies de plantas sob baixas concentrações de oxigênio, há uma eficiente mobilização de polissacarídeos de reserva, principalmente na parte aérea, favorecendo o aumento na taxa glicolítica nos tecidos. Apesar disso, diversas espécies de plantas diminuem o metabolismo ao nível mínimo, apenas para a manutenção da sobrevivência (VARTAPETIAN, 2006).

A falta do oxigênio como acceptor final de elétrons na mitocôndria, inicialmente, reduz a atividade de enzimas do ciclo dos ácidos tricarboxílicos e ativa a rota fermentativa. A primeira

enzima induzida é a lactato desidrogenase (LDH), que leva a produção de lactato. Ao se acumular na célula, o lactato reduz o pH celular. A acidose celular leva à redução na formação de lactato e, conseqüentemente ativação da piruvato descarboxilase (PDC) e da álcool desidrogenase (ADH), com produção de etanol. O etanol é menos tóxico para a célula por não interferir no pH e sua elevada produção pode estar relacionada com a tolerância às baixas concentrações de oxigênio (VARTAPETIAN, 2006). Outra via alternativa para regenerar o NAD^+ utilizado na via glicolítica é a reação de assimilação de nitrato e sua redução a nitrito através da enzima Redutase do Nitrato (RN), principalmente em raiz. O nitrito é então convertido a amônio e este é utilizado na formação de aminoácidos. O acúmulo de aminoácidos e outros compostos nitrogenados não afeta do metabolismo (ARAGÃO, 2010).

O processo fotossintético pode ser afetado de diversas formas em consequência da hipóxia ou anoxia. Exceto em algumas plantas tolerantes a inundação que desenvolveram mecanismos para manter uma melhor capacidade fotossintética. O alagamento pode influenciar negativamente o processo de regulação estomática. Com o fechamento estomático ocorre redução na difusão do CO_2 , prejudicando a fase bioquímica da fotossíntese, associado a isso pode ocorrer redução nas concentrações de pigmentos fotossintéticos. A degradação e diminuição da síntese de pigmentos fotossintéticos como a clorofila, leva a uma falta de energia que deveria ser fornecida pela fase fotoquímica da fotossíntese. A diminuição das reações nos cloroplastos, faz com que o fotossistema II (PSII) forneça pouca energia para o Ciclo de Calvin-Benson.

Outra consequência do alagamento é o início do estresse oxidativo, que é resultante do aumento descontrolado de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem ser formadas por estresse abióticos ou bióticos. EROs são radicais livres, ou seja, possuem elétrons desemparelhados na camada de valência e, por isso, são altamente reativas. As principais formas de EROs são: - radicais superóxido (O_2^-), provenientes da redução incompleta do O_2 no metabolismo aeróbico; - peróxido de hidrogênio (H_2O_2), intermediário reativo do oxigênio, é perigoso por migrar pela célula e atingir alvos distantes do local de sua formação, formado pela dismutação do superóxido e também como subproduto da assimilação oxidativa de várias pontes de carbono e nitrogênio; - e o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), que pode mudar o DNA quando está a sua forma excitada (GILL e TUTEJA, 2010). O radical superóxido (O_2^-) não pode atravessar as membranas biológicas e é prontamente dismutado a H_2O_2 . Os radicais hidroperoxila (HO_2^-), formados a partir do superóxido por protonação em soluções aquosas, podem atravessar as membranas biológicas e subtrair átomos de hidrogênio de ácidos graxos poliinsaturados e hidroperóxidos de lipídeos, iniciando então, a auto-oxidação de lipídeos

(BLOKHINA; FAGERSTEDT, 2010). Radical hidroxila (OH^\cdot) é um dos mais reativos das espécies reativas de oxigênio. Pode ser gerado a partir de O_2^\cdot ou H_2O_2 na reação de Harber-Weiss. A combinação extremamente rápida do OH^\cdot com metais ou outros radicais no próprio sítio onde foi produzido confirma sua alta reatividade. Pode reagir potencialmente com todas as moléculas biológicas como DNA, proteínas e lipídeos.

Devido à incapacidade de mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos para eliminar essas EROs, seu acúmulo pode levar à morte celular (VRANOVÁ et al., 2002). O H_2O_2 desempenha um papel duplo nas plantas: em baixas concentrações, atua como uma molécula envolvida na sinalização, que desencadeia tolerância a vários estresses bióticos e abióticos. Entre os processos induzidos pelo H_2O_2 estão: fechamento estomático, expressão de genes relacionados a respostas ambientais, formação de ligações transversais na parede celular e biogênese dos peroxissomos (GILL e TUTEJA, 2010).

O íon nitrato, que em geral é a principal fonte de nitrogênio, pode passar a ter função especial, pela possibilidade de ser utilizado como aceptor final de elétrons no citosol, dependendo de NADH para fazer a redução do nitrato para o nitrito. Assim, atividade da redutase do nitrato pode representar uma maior regeneração do poder redutor NAD^+ , já que a RN não tem ação competitiva de poder redutor com as enzimas lactato desidrogenase e álcool desidrogenase, contribuindo, desta forma, para maior intensidade e continuação da glicólise (STEFFENS; STEFFENS-HEINZ; SAUTER, 2013).

Ao se levar em consideração a maior produção de EROs e os prejuízos causados pelas mesmas, se faz necessário um sistema antioxidante enzimático e não-enzimático eficiente. O sistema antioxidante enzimático é composto por enzimas especializadas, como a dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT). Enquanto o sistema antioxidante não-enzimático é formado pelo ascorbato, glutatona e tocoferol. Esses sistemas atuam na proteção contra danos oxidativos e podem ser controlados pela concentração de O_2 na célula. Plantas possuem diversas isoformas de SOD, CAT e APX que podem ter diferentes funções no metabolismo celular e estar localizadas em compartimentos celulares distintos (BLOKHINA; FAGERSTEDT, 2010; STEFFENS; STEFFENS-HEINZ; SAUTER, 2013).

A SOD é a primeira enzima do sistema antioxidante e representa a primeira linha de defesa contra EROs, já que realizada a dismutação dos íons superóxido, com formação de H_2O_2 . Os íons superóxidos são sintetizados em qualquer compartimento celular onde ocorra transporte de elétrons, desta forma a SOD se encontra presente em todos os compartimentos celulares suscetíveis ao estresse oxidativo (CAVALCANTI et al., 2004).

A CAT é a proteína que catalisa a dismutação do H_2O_2 em água e oxigênio molecular. Está presente nos peroxissomos e glioxissomos (GILL e TUTEJA, 2010). A APX é considerada a enzima mais importante da eliminação de H_2O_2 no citosol e cloroplasto. É a principal enzima do ciclo ascorbato-glutationa e utiliza do ascorbato como seu doador de elétrons para reduzir H_2O_2 em água. Este ciclo é uma via eficiente para compartimentos celulares onde não existe CAT presente, como cloroplastos, mitocôndrias, ou ainda no citosol e nos peroxissomos (GILL e TUTEJA, 2010).

Associados ao sistema antioxidante enzimático, estão os antioxidantes não enzimáticos, tais como ácido ascórbico, tocoferol, glutathione e compostos fenólicos. O ácido ascórbico atua como doador de elétrons em diversas reações enzimáticas e não enzimáticas, além de possuir outras funções nas células. O tocoferol é um antioxidante ligado à proteção das membranas celulares e outras funções não antioxidantes. Os compostos fenólicos são compostos secundários abundantes em plantas e com estrutura química favorável para sequestrar radicais livres (BLOKHINA; FAGERSTEDT, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condução do Experimento

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no departamento de Biologia, setor de Fisiologia Vegetal do município de Lavras-MG localizado a uma latitude 21° 14' 43 S e a uma longitude 44° 59' 59 O, estando a uma altitude de 919 metros. A condução do experimento ocorreu durante os meses de junho a setembro de 2018. Foram selecionadas sementes de duas cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), a BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso, desenvolvidas pela UFLA em conjunto com a Universidade Federal de Viçosa (UFV), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa - Arroz e Feijão CNPAF) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig). A cultivar BRSMG-Majestoso possui grãos do tipo carioca, com hábito de crescimento indeterminado, resistente a mancha angular e ferrugem (ABREU et al. 2007) e a BRSMG-Uai apresenta tipo de grão carioca, arquitetura ereta, com hábito de crescimento indeterminado e ciclo de vida de 80 a 90 dias (RAMALHO et al. 2016). Por ser uma cultivar relativamente nova, não há estudos sobre os aspectos fisiológicos da cultivar BRSM-Uai sob condições ambientais adversas.

Estas foram semeadas em bandejas de germinação contendo vermiculita e areia (1:1). Após 11 dias de semeadura, as plântulas se encontravam no estágio de desenvolvimento V1 (cotilédones ao nível do solo), foram então selecionadas quanto à uniformidade de tamanho e vigor e transferidas para recipientes de polipropileno contendo 40 litros de solução nutritiva adaptada (HOAGLANG e ARNON 1950) e aeração constante (FIGURA 2). As duas cultivares de feijão foram colocadas no mesmo recipiente de forma aleatória (6 plantas de cada cultivar) em placas de isopor furadas, sendo fixadas pelo colo da planta de modo que apenas o sistema radicular ficasse em contato com a solução nutritiva (SN). A SN foi constituída pelos seguintes sais para fornecer o macronutrientes: KCl (6,0 mM), NaNO₃ (6,0 mM), Ca(NO₃)₂ (4,0 mM), NH₄H₂PO₄ (2,0 mM), MgSO₄ (1,0 mM) e pelos seguintes sais para os micronutrientes: Fe-EDTA (40,0 μM), H₃BO₃ (12,5 μM), MnSO₄ (1,0 μM), ZnSO₄ (1,0 μM), CuSO₄ (0,25 μM), H₂MoO₄ (0,25 μM).

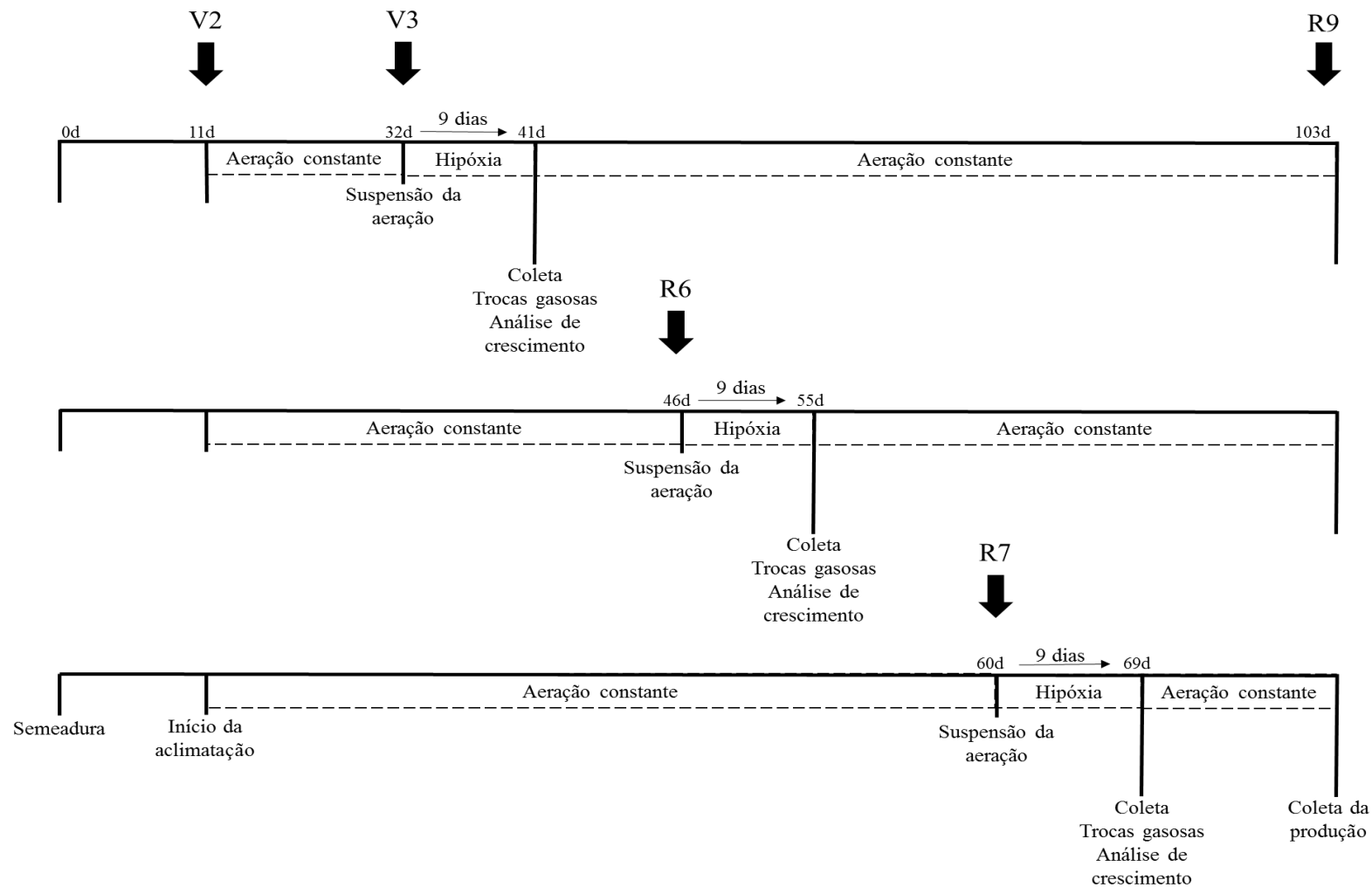
A fim de evitar o choque osmótico, as plântulas passaram por um período de aclimação após serem transferidas para a SN. A aclimação ocorreu da seguinte forma: primeiramente as plântulas ficaram em contato com a solução com ¼ de força por 7 dias, em seguida ½ força por 7 dias e, finalmente, força completa onde as plantas permaneceram até o final do experimento. A solução nutritiva foi trocada semanalmente e o pH monitorado diariamente, sendo corrigido pelo uso de HCl 1M ou NaOH 1M para manter pH 6 ± 0,5.

Ao atingirem fase fenológica (FIGURA 2) V3/V4 (surgimento da terceira folha trifoliada), R6 (abertura da primeira flor) e R7 (aparecimento das primeiras vagens), as plantas foram submetidas a hipóxia (n=12). Para tanto, foi retirada a aeração dos recipientes enquanto outros permaneceram com aeração para serem usados como controle. Após 9 dias de hipóxia (máximo estresse) nas fases fenológicas V3/V4, R6 e R7 as plantas de cada tratamento (n=6) foram coletadas e imediatamente colocadas em nitrogênio líquido para posterior análises bioquímicas e de crescimento. Após a coleta das seis repetições após máximo estresse em cada fase fenológica vegetativo, a aeração das demais plantas submetidas a hipóxia foi reestabelecida e as outras seis plantas remanescentes foram conduzidas até completar o ciclo de cultivo para se obter os dados de produtividade de grãos.

Para as análises fisiológicas e bioquímicas, parte do material vegetal foi coletado em N líquido, separados em raiz e trifólios completamente expandidos, e em seguida armazenado em ultrafreezer a -80°C . Parte do material vegetal foi armazenado em sacos pardos e levados a estufa de circulação forçada a 65°C até peso constante para determinação da biomassa.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e seis repetições (duas plantas por repetição). As análises fisiológicas, bioquímicas e morfológicas foram realizadas quando as plantas se encontrarem em situação de máximo estresse por hipóxia (após nove dias sem aeração). Todo o material coletado foi devidamente identificado e armazenado. O oxigênio dissolvido na solução nutritiva foi quantificado através de titulação realizada no Laboratório de Análise de Água (Laadeg UFLA) para comprovar que as plantas se encontravam em situação de hipóxia. Nos recipientes controle o oxigênio dissolvido foi de $7,6 \text{ mg/L}^{-1}$, enquanto que nos recipientes sem aeração por 9 dias foi de $4,9 \text{ mg/L}^{-1}$.

Figura 2 - Representação esquemática do período experimental.



Fonte: do autor (2019).

3.2 Análises biométricas

A altura das plantas e comprimento total da raiz foram mensuradas através do uso de régua. A altura das plantas foi medida através da medida do coleto das plantas até a gema apical. O diâmetro do caule foi medido na altura do coleto com o auxílio de um paquímetro digital (Modelo Mitutoyo). O número de folhas foi por contagem direta. A massa seca de parte aérea, raízes e grãos e total foi quantificada após a secagem do material vegetal em estufa de circulação forçada a 65°C até alcançar massa constante. Os valores de massa seca foram obtidos pela pesagem do material vegetal em balança digital (modelo Shimadzu). A determinação dos componentes de produção foi determinada após a colheita e secagem das vagens, pelo número de grãos produzido por planta, peso de grãos por planta e peso de cem grãos.

3.3 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram medidas utilizando-se o analisador de gás por infravermelho (IRGA - LI-6400XT Portable Photosynthesis System, LI-COR, Lincoln, USA) no folíolo central dos trifólios mais jovens completamente expandidos. Todas as avaliações foram realizadas em dias claros, entre 9:30 h e 10:30 h. Foram consideradas a fotossíntese líquida (A), concentração subestomática de CO₂ (C_i), condutância estomática (g_s) e transpiração (E). A radiação fotossinteticamente ativa (PAR) utilizada foi 1200 $\mu\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (NASCIMENTO et al., 2016). A média nos três dias de medições da temperatura foliar foi de $29,6 \pm 1,9$ °C, a umidade relativa (UR) da câmara foi de $49,6 \pm 7,9$ % e a pressão parcial de CO₂ foi de $420 \pm 6,9$ $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

3.4 Determinação de pigmentos fotossintéticos

Para a determinação dos teores de clorofila e carotenoides, foram pesados 0,1 gramas de tecido foliar e colocados em frascos âmbar com 10 mL de acetona 80% (v/v). Após 48 horas realizou-se leituras espectrofotométricas a 646,8 e 663,2 nm, e, para os teores de carotenoides, foram realizadas leituras a 470 nm, conforme metodologia adaptada de Lichtenthaler e Buschmann (2001).

3.5 Determinação de carboidratos, proteínas e aminoácidos

Os carboidratos foram extraídos da massa seca de folhas e raízes pela homogeneização de 0,2 mg de massa seca moída em moinho do tipo Willey em 5 mL de tampão fosfato de

potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40°C. O homogenato foi centrifugado a 5.000 g por 10 minutos, coletando-se o sobrenadante.

Para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), foi utilizado o método da Antrona (DISCHE, 1962) e para os açúcares redutores o protocolo descrito por Miller (1959), por meio do método DNS. Para o amido foi utilizado o protocolo descrito por Zanandrea et al. (2010) e para sacarose, o protocolo descrito por Van Handel (1968). Para aminoácidos foi utilizado o protocolo descrito por Yemm, Coccking e Ricketts (1955) pelo método da ninhidrina e para proteínas utilizou-se o protocolo descrito por Bradford (1976).

3.6 Determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante

O extrato enzimático foi obtido pela maceração em nitrogênio líquido de 0,2 g de material fresco de folhas e raízes, às quais foram adicionados 1,5 mL do tampão de extração contendo: 375 µL de tampão fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), 15 µL de EDTA 10 mM, 75 µL de ácido ascórbico 200 mM, e 1035 µL de água. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4 °C e o sobrenadante coletado e armazenado a -20 °C durante o período das análises. Os sobrenadantes coletados foram utilizados nas análises enzimáticas da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998).

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), em um meio de incubação composto por 100 µL de fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, 40 µL de metionina 70 mM, 3µL de EDTA 10 µM, 15 µL de NBT 1 mM, 2 µL de riboflavina 0,2 mM e 31 µL de água. Os tubos com o meio de reação e 10 µL de amostra foram iluminados por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20 W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foi iluminado. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi feito com a seguinte equação: % de inibição = $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977).

A CAT foi avaliada, segundo Haver e McHale (1987), em que uma alíquota de 5 µL do extrato enzimático foi adicionada a 180 µL do meio de incubação, contendo 90 µL de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 µL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 72 µL de água, incubado a 28 °C. A atividade dessa enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância, a

240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A atividade da APX foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos. Uma alíquota de 3 μL do extrato enzimático foi adicionada a 180 μL de tampão de incubação, composto por 90 μL de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 μL de ácido ascórbico 10 mM, 9 μL de peróxido de hidrogênio 2 mM e 63 μL de água (NAKANO; ASADA, 1981). O coeficiente de extinção molar utilizado foi $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

3.7 Determinação do conteúdo de peróxido de Hidrogênio e malondialdeído

Matéria fresca de folhas e raízes (0,2 mg) foram maceradas em nitrogênio líquido com polivinil polipirrolidona (PVPP), homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4 °C. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi determinado medindo-se a absorvância a 390 nm em um meio de reação, contendo 45 μL tampão fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, 45 μL do extrato e 90 μL de iodeto de potássio 1M (VELIKOVA; YORDANOV; EDREVA, 2000). A quantificação foi realizada, com base na curva padrão de peróxido de hidrogênio, com concentrações conhecidas.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege e Aust (1978). Duzentos miligramas de folhas foram macerados em nitrogênio líquido, acrescido de 20% de PVPP (m/v) e homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g, por 10 minutos. Alíquotas (125 μL) do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação, contendo 0,5% (m/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (m/v) de TCA, incubando-se, em seguida, a 95°C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: $[\text{MDA}] = (A_{535} - A_{600}) / (\epsilon \cdot b)$, em que: ϵ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1).

3.8 Determinação da atividade da enzima Redutase do Nitrato

Para a realização do ensaio enzima Redutase do Nitrato (RN), o extrato enzimático foi obtido a partir da maceração de 1,0 g de massa fresca de raízes em nitrogênio líquido,

adicionando 5 mL de tampão de extração contendo tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), PMSF 1 mM, EDTA 100 mM, 10% PVPP e DTT 2 mM. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 20 minutos a 4 °C e coletou-se o sobrenadante para a incubação.

A atividade da RN foi quantificada utilizando protocolo descrito por Berges; Harrison (1995) com algumas modificações. O extrato foi adicionado ao meio de reação constituído por tampão fosfato 0,1 M, pH 7.5, β -NADH 0,2 mM e KNO_3 10 mM. A reação foi iniciada pela adição de NADH, após a incubação do meio, por 3 minutos, a 30 °C. A oxidação do NADH foi monitorada pelo decréscimo da absorbância em 340 nm, durante 10 minutos, em intervalos de 1 minuto e a quantificação foi feita a partir dos 5 minutos de decaimento.

3.9 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias por Scott-Knott ($p \leq 0,05$) com o auxílio do software SISVAR®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises biométricas em cada fase fenológica nove dias após a suspensão da aeração nas cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso a fim de determinar o desempenho de crescimento dessas cultivares em condição de baixa disponibilidade de oxigênio (hipóxia) no sistema radicular.

Com relação ao acúmulo de massa seca da cultivar BRSMG-Uai verificou-se que não houve diferença entre os tratamentos nas fases fenológicas avaliadas (V3/V4/V4, R6 e R7) para as variáveis massa seca de folha, raiz, caule e massa seca total. Já para cultivar BRSMG-Majestoso, a submissão das plantas a hipóxia não interferiu na massa seca de folhas na fase fenológica V3/V4/V4, porém, foram observadas redução média de 35% em R6 e R7. Assim como para cultivar BRSMG-UAI, na cultivar BRSMG-Majestoso a massa seca de caule e raiz não foram afetadas pela hipóxia em nenhuma das fases fenológicas avaliadas (TABELA 1).

Tabela 1 - Massa seca de folha, raiz, caule e total das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nas fases fenológicas V3/V4/V4, R6 e R7.

Fase fenológica	Cultivar	Tratamento	MS Folha (g)	MS Raiz (g)	MS Caule (g)	MS Total (g)
V3/V4	UAI	Controle	3,82 A	1,71 A	1,66 A	7,19A
		Hipóxia	2,47 A	1,01 A	1,47 A	4,94A
	Majestoso	Controle	3,97 A	1,23 A	1,89 A	7,08A
		Hipóxia	3,29 A	1,13 A	2,00 A	6,42A
R6	UAI	Controle	10,41 A	3,92 A	7,91 A	22,25A
		Hipóxia	6,97 A	3,07 A	6,86 A	16,90A
	Majestoso	Controle	15,24 A	4,45 A	11,86 A	31,55A
		Hipóxia	9,55 B	3,16 A	8,16 A	20,86A
R7	UAI	Controle	17,91 A	5,07 A	17,64 A	40,61A
		Hipóxia	13,73 A	5,05 A	17,71 A	36,49A
	Majestoso	Controle	18,03 A	4,54 A	16,39 A	38,96A
		Hipóxia	12,03 B	4,27 A	12,42 A	28,72A

Nota: As letras comparam a cultivar dentro de cada tratamento. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: do autor (2019).

Com relação à altura das plantas, a cultivar BRSMG-Uai não apresentou diferenças entre os tratamentos nas diferentes fases fenológicas avaliadas. Em relação ao comprimento da raiz, os maiores valores foram observados em V3/V4 no controle, ao passo que não houve diferença entre os tratamentos em R6 e R7. Quanto ao diâmetro caule, os tratamentos não diferiram entre si nas fases fenológicas avaliadas. Já quanto ao número de trifólios os maiores

valores foram observados no controle em R7, para as demais fases fenológicas não houve diferenças entre os tratamentos (TABELA 2).

Tabela 2 - Altura, comprimento de raiz, diâmetro do caule e número de trifólios das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nas fases fenológicas V3/V4, R6 e R7.

Fase Fenológica	Cultivar	Tratamento	Altura (cm)	Comprimento da Raiz (cm)	Diâmetro do Caule (mm)	Nº de Trifólios
V3/V4	UAI	Controle	15,8 Ab	47,3 Aa	6,3 Ab	12,5 Ac
		Hipóxia	13,9 Ab	34,4 Ba	5,2 Ab	9,5 Ac
	Majestoso	Controle	21,3 Ab	30,7 Ab	4,5 Ab	9,2 Ab
		Hipóxia	27,9 Ab	34,2 Aa	4,7 Ab	10 Ab
R6	UAI	Controle	20,4 Ab	41,5 Aa	8,3 Aa	23,2 Ab
		Hipóxia	23,1 Ab	38,8 Aa	7,3 Aa	19,3 Ab
	Majestoso	Controle	30,5 Ab	41,5 Aa	8,3 Aa	31,3 Aa
		Hipóxia	25,2 Ab	37,8 Aa	7,6 Aa	22,8 Ba
R7	UAI	Controle	43,0 Aa	45,8 Aa	9,7 Aa	38,0 Aa
		Hipóxia	37,2 Aa	45,8 Aa	8,5 Aa	28,5 Ba
	Majestoso	Controle	38,8 Ba	42,2 Aa	8,8 Aa	31,8 Aa
		Hipóxia	50,8 Aa	45,5 Aa	7,3 Aa	29,2 Aa

Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada fase fenológica. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: do autor (2019).

A cultivar BRSMG-Majestoso apresentou, sob hipóxia, altura aproximadamente 24% maior que o controle em R7, enquanto em V3/V4 e R6 não se observou diferenças entre os tratamentos. Em relação ao comprimento de raiz e diâmetro do caule não houve diferenças significativas entre os tratamentos para as fases fenológicas avaliadas. Já para o número trifólios, houve redução 27% nas plantas submetidas a hipóxia quando comparado ao controle em R6, ao passo que não houve diferenças entre os tratamentos em V3/V4 e R7.

Ao comparar as fases fenológicas, observou-se na cultivar BRSMG-Uai (TABELA 2) que os maiores valores de altura da planta foram constatados em R7, enquanto que V3/V4 e R6 não diferiram significativamente entre si, independente do tratamento. Não houve diferença para o comprimento da raiz entre as fases fenológicas avaliadas. Os menores valores de diâmetro do caule foram obtidos em V3/V4 para ambos os tratamentos, ao passo que R6 e R7 não apresentaram diferenças significativas. Em V3/V4, observou-se os menores valores para o número de trifólios e em R7 os maiores valores, independente do tratamento.

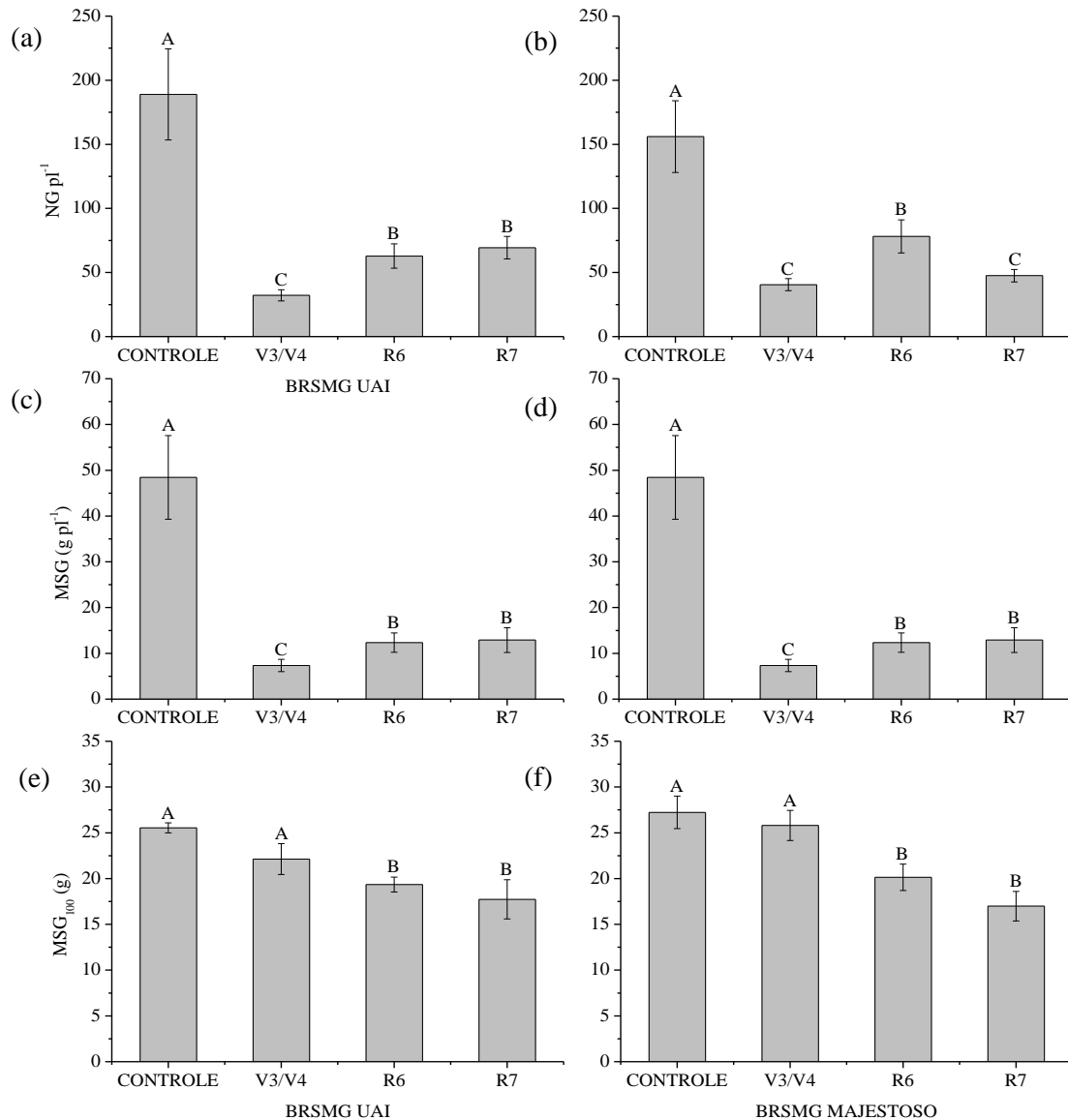
Já a cultivar BRSMG-Majestoso, apresentou em R7 maior altura da planta tanto no controle quanto sob hipóxia, enquanto em V3/V4 e R6 não houve diferenças significativas entre

os tratamentos. Os menores valores de comprimento de raiz foram observados no controle em V3/V4, enquanto em R6 e R7 não houve diferença para essa variável. O diâmetro do caule e número de trifólios apresentaram os menores valores em V3/V4, não diferindo em R6 e R7 independente do tratamento.

A cultivar BRSMG-Uai apresentou redução no número de grãos por planta (NG; FIGURA 3a) de aproximadamente 83% em V3/V4 e em média de 65% para R6 e R7 em relação ao controle. Com relação a massa seca de grãos por planta (MSG; FIGURA 3c), houve redução de 84% em V3/V4 e de aproximadamente 74% em R6 e R7 quando comparados ao controle. Quanto a massa seca de 100 grãos (MSG₁₀₀; FIGURA 3e), não foram observadas diferenças significativas entre V3/V4 e controle, apresentando valores médios 16% superiores a R6 e R7 que não diferiram estatisticamente entre si.

Em relação a cultivar BRSM-Majestoso, o NG (FIGURA 3b) foi em média 72% menor em V3/V4 e R7 e de 50% em R6 quando comparados ao controle. Para o MSG (FIGURA 3d) as fases V3/V4, R6 e R7 não diferiram entre si, sendo 79% inferiores ao controle. O MSG₁₀₀ (FIGURA 3f) foram aproximadamente 30% menores em R6 e R7 quando comparados ao controle e V3/V4 que não diferiram significativamente.

Figura 3 - Efeito da hipóxia no número de grãos por planta (NG), massa seca de grãos por planta (MSG) e massa seca de 100 grãos (MSG₁₀₀) durante as fases fenológicas V3/V4, R6 e R7 das cultivares de feijão BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso. BRSMG-Uai: NG (a); MSG (c) e MSG₁₀₀ (f). BRSMG-Majestoso: NG (b); MSG (d) e MSG₁₀₀ (g).

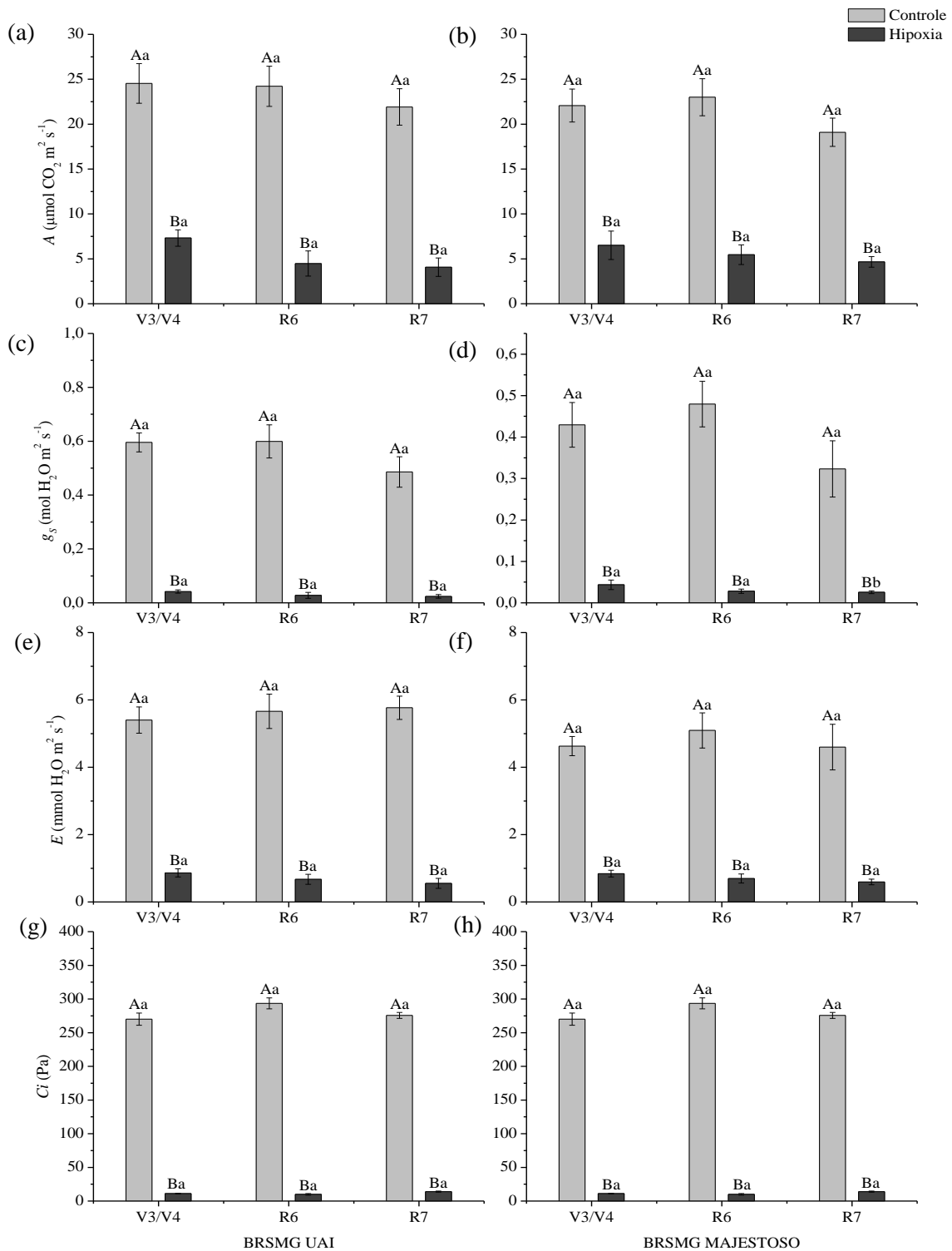


Nota: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

Com imposição das plantas a hipóxia, as cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso apresentaram redução na assimilação de CO₂ (*A*; FIGURA 4a e 4b), condutância estomática (*g_s*; FIGURA 4c e 4d), transpiração (*E*; FIGURA 4e e 4f) e concentração subestomática de CO₂ (*C_i*; FIGURA 4g e 4h), quando comparados ao controle em todas as fases fenológicas avaliadas. Em relação as fases fenológicas, não foram observadas diferenças significativas na *A*, *g_s*, *E* e *C_i* para ambos tratamentos e cultivares.

Figura 4 - Fotossíntese líquida (*A*, a, b), condutância estomática (*g_s*, c, d), transpiração (*E*; e, f) concentração subestomática de CO₂ (*C_i*; g, h) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipoxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



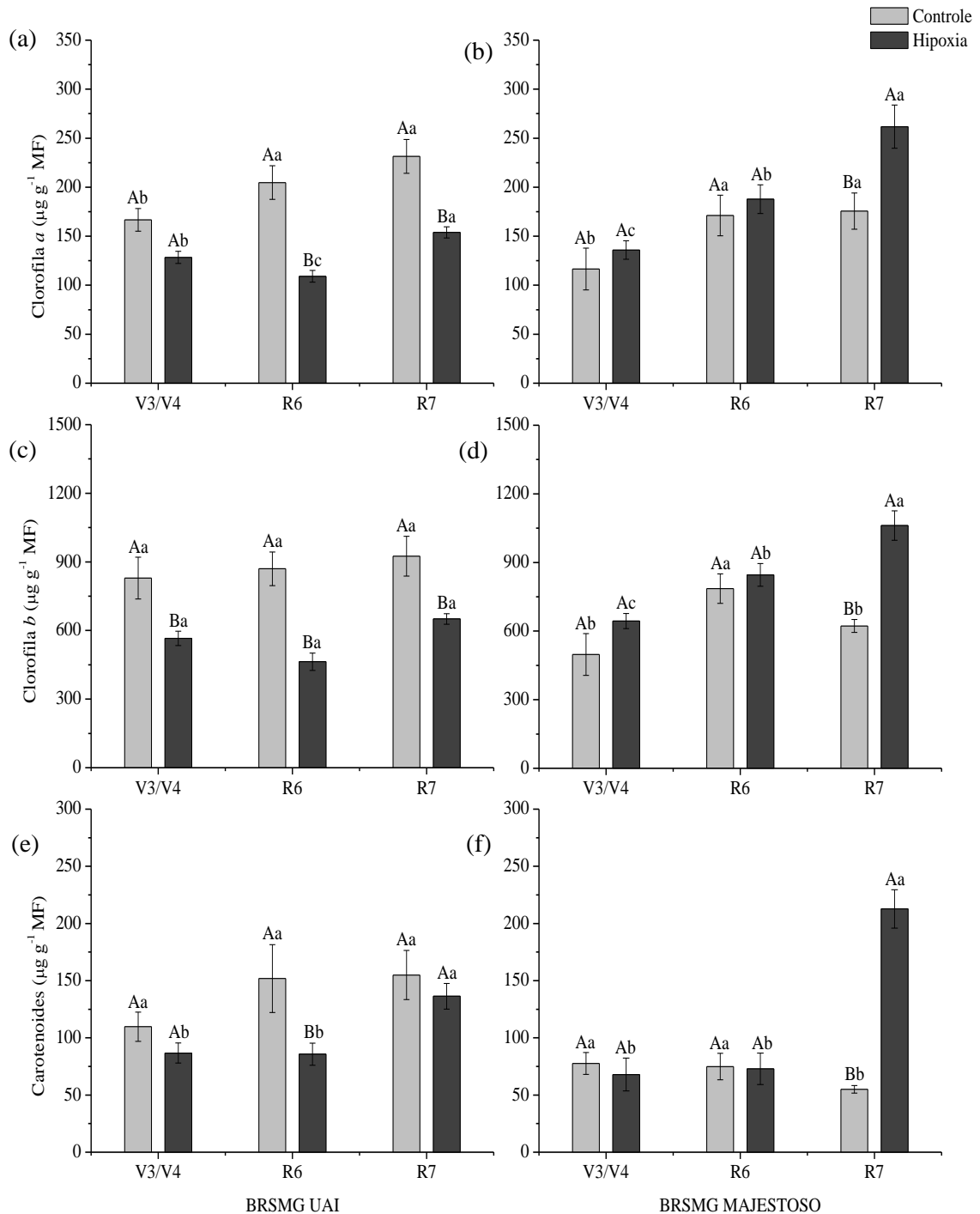
Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

Ao observarmos os teores de pigmentos, vemos uma dinâmica muito distinta entre as cultivares (FIGURA 5). Para a cultivar BRSMG-Uai, os teores de clorofila *a* e *b* (FIGURA 5a e 5c) foram menores nas plantas submetidas a hipóxia quando comparadas ao controle em todas as fases fenológicas avaliadas. No entanto, sob hipóxia os teores de carotenoides (FIGURA 5e) apresentaram redução de 19% em R6, ao passo que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas em V3/V4 e R7. A cultivar BRSMG-Majestoso não expressou diferenças em V3/V4 e R6 para os teores de pigmentos (clorofila *a*, *b* e carotenoides). Porém, em R7, sob condições hipóxicas, as plantas apresentaram aumento de 33%, 41% e 74% para os teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides, respectivamente (FIGURA 5b, 5d e 5f).

Ao comparar as fases fenológicas, na cultivar BRSMG-Uai (FIGURA 5) os menores teores de clorofila *a* foram observados em V3/V4, ao passo que R6 e R7 não diferiram significativamente entre si. Sob hipóxia, os maiores teores de clorofila *a*, foram obtidos em R7, seguido de V3/V4 e os menores observados em R6 (FIGURA 5a). Para os teores de clorofila *b*, não houve diferença entre as fases fenológicas avaliadas em ambos tratamentos (FIGURA 5c). Em relação aos teores de carotenoides, no controle não houve diferenças entre V3/V4, R6 e R7, no entanto, sob hipóxia os menores valores foram observados em V3/V4 e R6, quando comparados a R7 (FIGURA 5e). Para a cultivar BRSMG-Majestoso (FIGURA 5b), em V3/V4 constatou-se os menores valores para os teores de clorofila *a* para o controle, quando comparados a R6 e R7 que não diferenciaram entre si. Sob hipóxia os maiores teores de clorofila *a* foram encontrados em R7, e os menores em V3/V4 (FIGURA 5b). Para os teores de clorofila *b*, no controle os menores teores foram observados em V3/V4 e R7, ao passo que com a submissão das plantas a hipóxia levou a um aumento gradativo dos teores desse pigmento conforme o avanço da fase fenológica (FIGURA 5d). Os teores de carotenoides no controle apresentaram menores valores em R7 em relação a V3/V4 e R6 que tiveram valores semelhantes, em contrapartida, sob condições hipóxicas, houve um aumento médio de 67% em R7, quando comparado a V3/V4 e R6 (FIGURA 5f).

Figura 5 - Teor de Clorofila *a* (a, b), Clorofila *b* (c, d) e Carotenoides (e, f) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



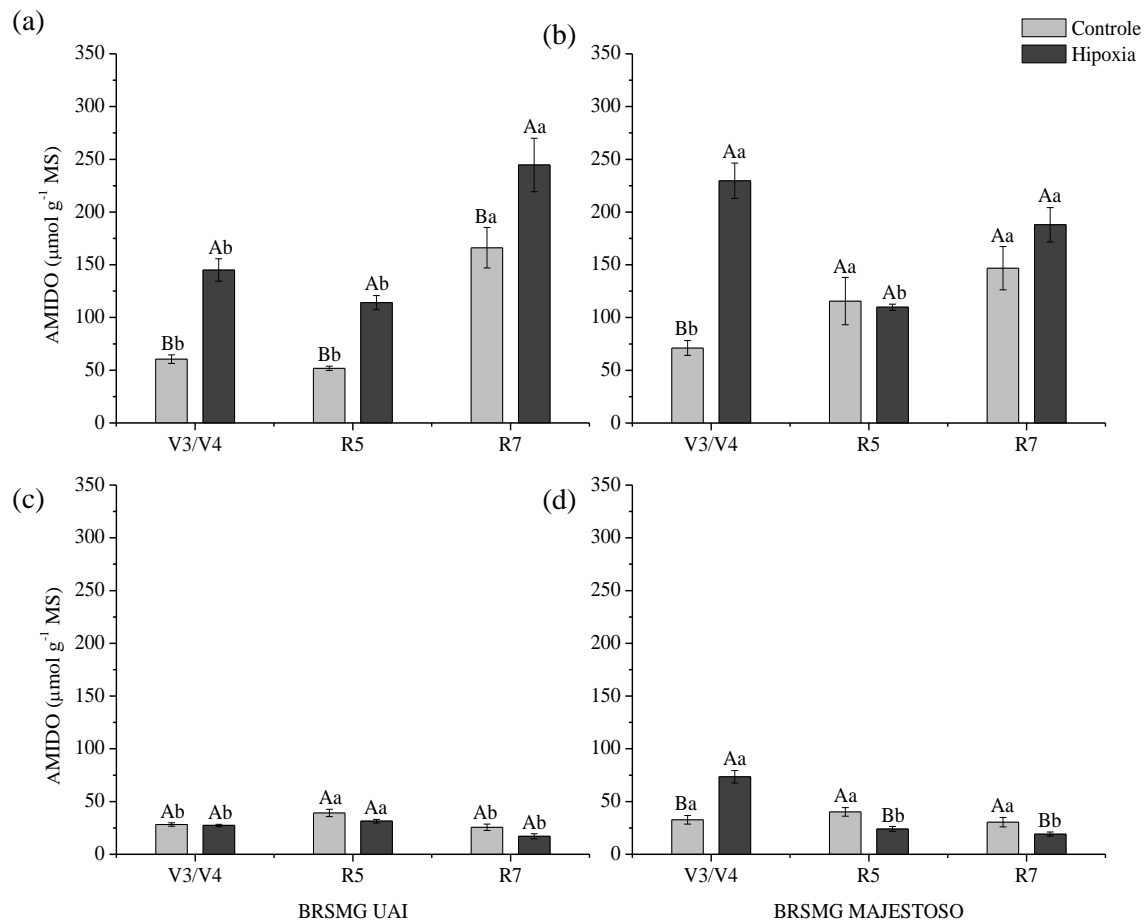
Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

Os teores de amido nas folhas da cultivar BRSMG-Uai aumentaram significativamente com a submissão das plantas a hipóxia em todas as fases fenológicas avaliadas (FIGURA 6a). Na raiz os teores de amido não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos nas fases V3/V4, R6 e R7 (FIGURA 6c). Para a cultivar BRSMG-Majestoso, sob hipóxia houve incremento de 69% dos teores de amido nas folhas em V3/V4, ao passo que não houve diferença significativa entre R6 e R7, quando comparados ao controle (FIGURA 6b). Na raiz, observou-se um aumento nos teores de amido em V3/V4, enquanto para R6 e R7 houve uma diminuição em comparação ao controle (FIGURA 6d).

Quando comparadas as fases fenológicas, observamos que a cultivar BRSMG-Uai apresentou maiores teores de amido na folha em R7 independente do tratamento, quando comparadas a V3/V4 e R6, que não diferiram entre si (FIGURA 6a). Nas raízes da cultivar BRSMG-Uai, os teores de amido foram maiores em R6 nas plantas controle e sob hipóxia, em relação a V3/V4 e R7 que tiveram valores semelhantes (FIGURA 6c). Para as plantas controle, os teores de amido das folhas da cultivar BRSMG-Majestoso foram maiores em R6 e R7, já nas plantas sob hipóxia, os menores teores foram obtidos em R6 (FIGURA 6b). Nas raízes, não houve diferença significativa entre as fases fenológicas avaliadas no controle, ao passo que sob condições hipóxicas observou-se aumento médio de 71% na fase V3/V4, quando comparadas a R6 e R7 que não diferiram significativamente (FIGURA 6d).

Figura 6 - Teor de Amido em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

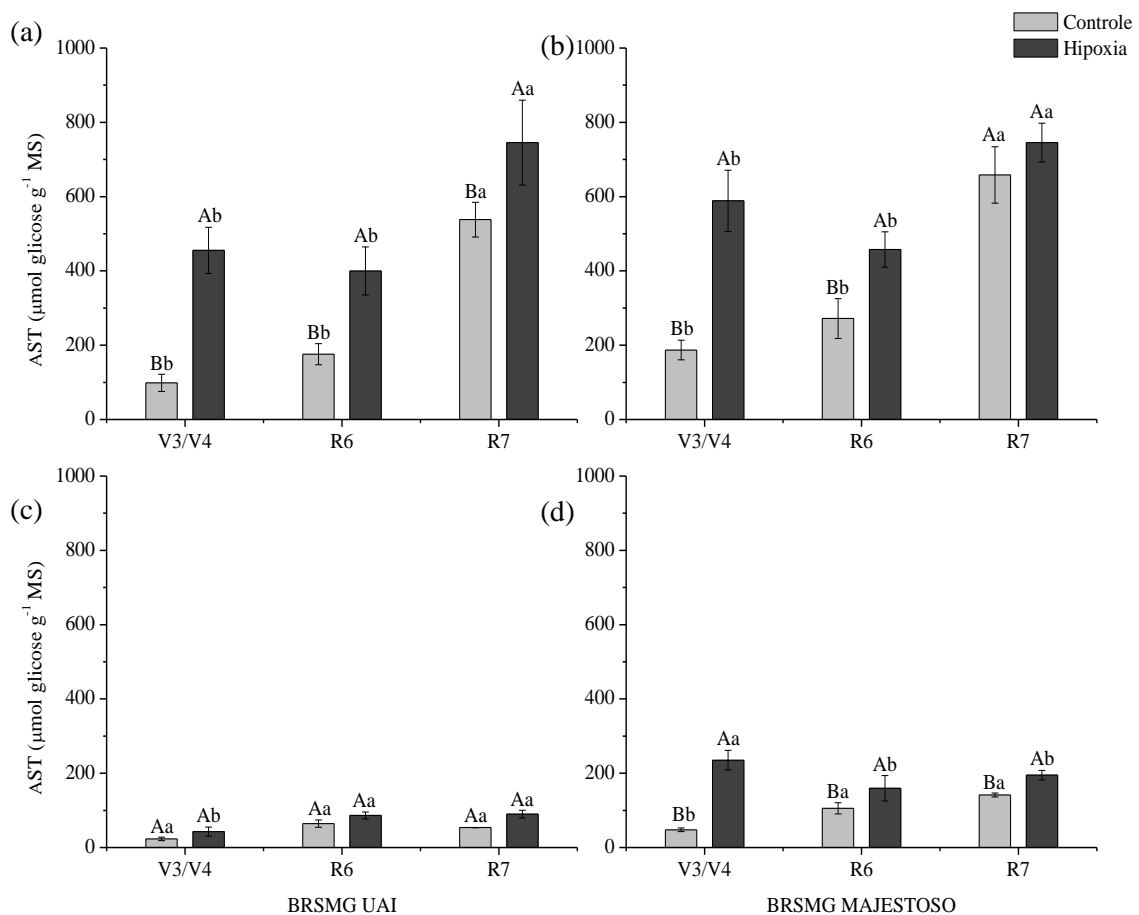
Fonte: do autor (2019).

Quando comparados ao controle, os teores de açúcares solúveis totais (AST; FIGURA 7) em folhas da cultivar BRSMG-Uai aumentou sob hipóxia, em todas as fases fenológicas avaliadas. Em V3/V4 o aumento foi de 78%, seguido de 56% em R6 e de 28% em R7 (FIGURA 7a). Nas raízes, não houve diferença no teor de AST entre os tratamentos em V3/V4, R6 e R7 (FIGURA 7c). Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, maiores teores de AST foram observados em V3/V4 e R6, nas plantas submetidas a hipóxia, ao passo que em R7 não foram constatadas diferenças entre os tratamentos (FIGURA 7b). Nas raízes, as condições hipóxicas provocaram aumento dos teores de AST em todas as fases fenológicas avaliadas, sendo mais significativo em V3/V4 (80%) (FIGURA 7d).

Comparando as fases fenológicas da cultivar BRSMG-Uai, nas folhas de ambos tratamentos, R7 apresentou os maiores teores de AST em relação a V3/V4 e R6 que não

diferenciaram entre si (FIGURA 7a). Porém, para os teores de AST nas raízes, não houve diferença entre as fases fenológicas avaliadas independente do tratamento, exceto em V3/V4 sob hipóxia que apresentou valores menores quando comparados a R6 e R7 (FIGURA 7c). Assim como para cultivar BRSMG-Uai, nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso os maiores teores de AST foram obtidos R7, quando comparados a V3/V4 e R6, tanto no controle quanto sob hipóxia (FIGURA 7b). Nas raízes, em R6 e R7 o controle apresentou maiores teores de AST em relação a V3/V4. Em contrapartida, os maiores teores de AST foram encontrados em V3/V4 sob hipóxia, quando comparados a R6 e R7 que tiveram valores semelhantes (FIGURA 7d).

Figura 7 - Teor de açúcares solúveis totais em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



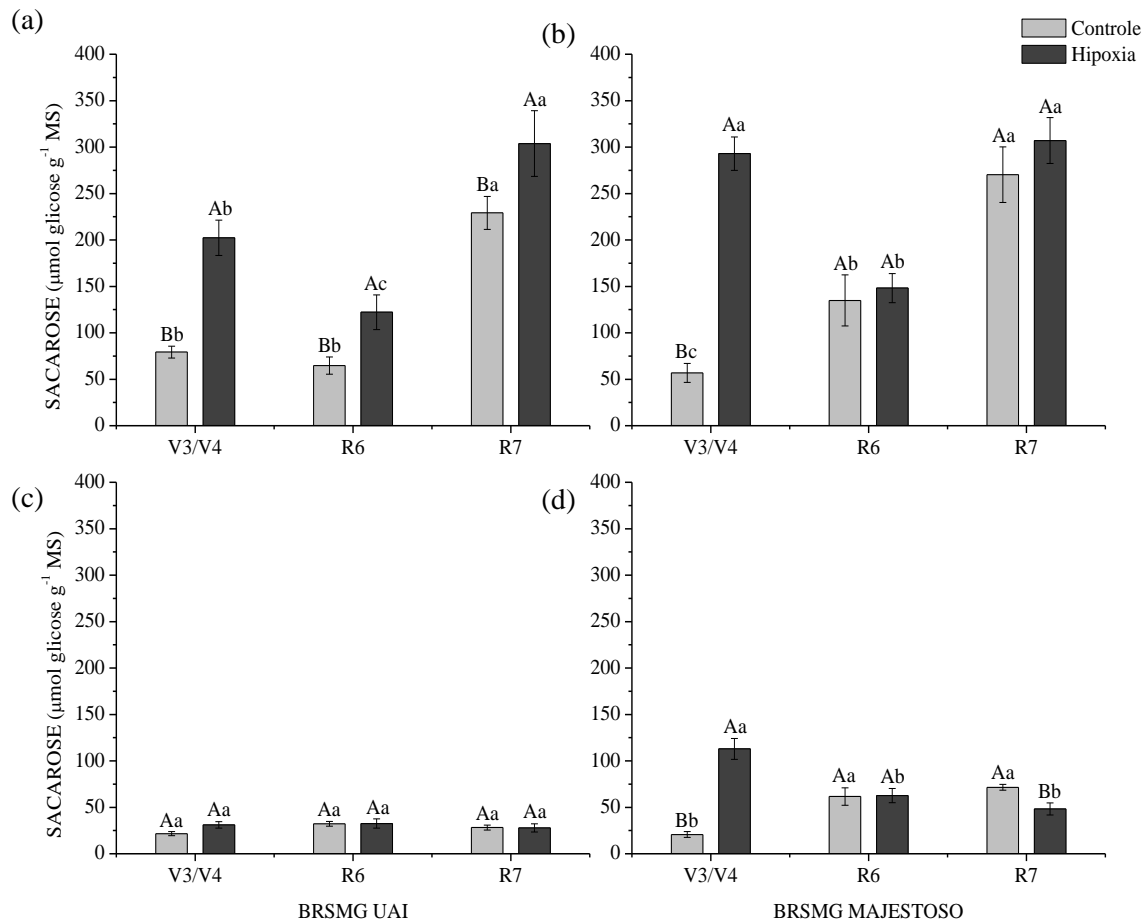
Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

Para os teores de sacarose (FIGURA 8) as folhas da cultivar BRSMG-Uai apresentaram aumento sob condições hipóxicas em todas as fases fenológicas avaliadas, sendo de 61% em V3/V4, 47% em R6 e de 25% em R7, quando comparadas ao controle. Para as raízes, não houve diferenças entre os tratamentos em V3/V4, R6 e R7 (FIGURA 8c). Comparando as fases fenológicas para cada tratamento, no controle, os teores de sacarose nas folhas da cultivar BRSMG-Uai foram maiores em R7, quando equiparados a V3/V4 a R6 que não divergiram significativamente entre si. Nas plantas submetidas a hipóxia, os maiores teores de sacarose foram encontrados em R7, seguido de V3/V4 e os menores valores observados em R6 (FIGURA 8a). Nas raízes, os teores de sacarose não foram influenciados pela fase fenológica (FIGURA 8c). Na cultivar BRSMG-Majestoso, no controle, os teores de sacarose aumentam em média 54% de acordo com o avanço da fase fenológica. Sob hipóxia, houve redução nos teores de sacarose em R6 quando comparados a V3/V4 e R7 estatisticamente semelhantes (FIGURA 8b). Nas raízes, os menores teores de sacarose foram encontrados em V3/V4 para o controle, ao passo que, nessa mesma fase fenológica, em condições hipóxicas, observou-se os maiores valores, quando comparados a R6 e R7 (FIGURA 8d).

Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, os teores de sacarose diferiu apenas em V3/V4, com maiores valores nas plantas sob hipóxia, superando em 81% o controle (FIGURA 8b). Nas raízes, assim como nas folhas, sob condições hipóxicas, houve um aumento expressivo dos teores de sacarose em V3/V4 (82%), em contrapartida, em R7 a submissão das plantas a hipóxia levou a uma redução dos teores de sacarose de 33%, quando comparados ao controle. Em R6, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (FIGURA 8d).

Figura 8 - Sacarose em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

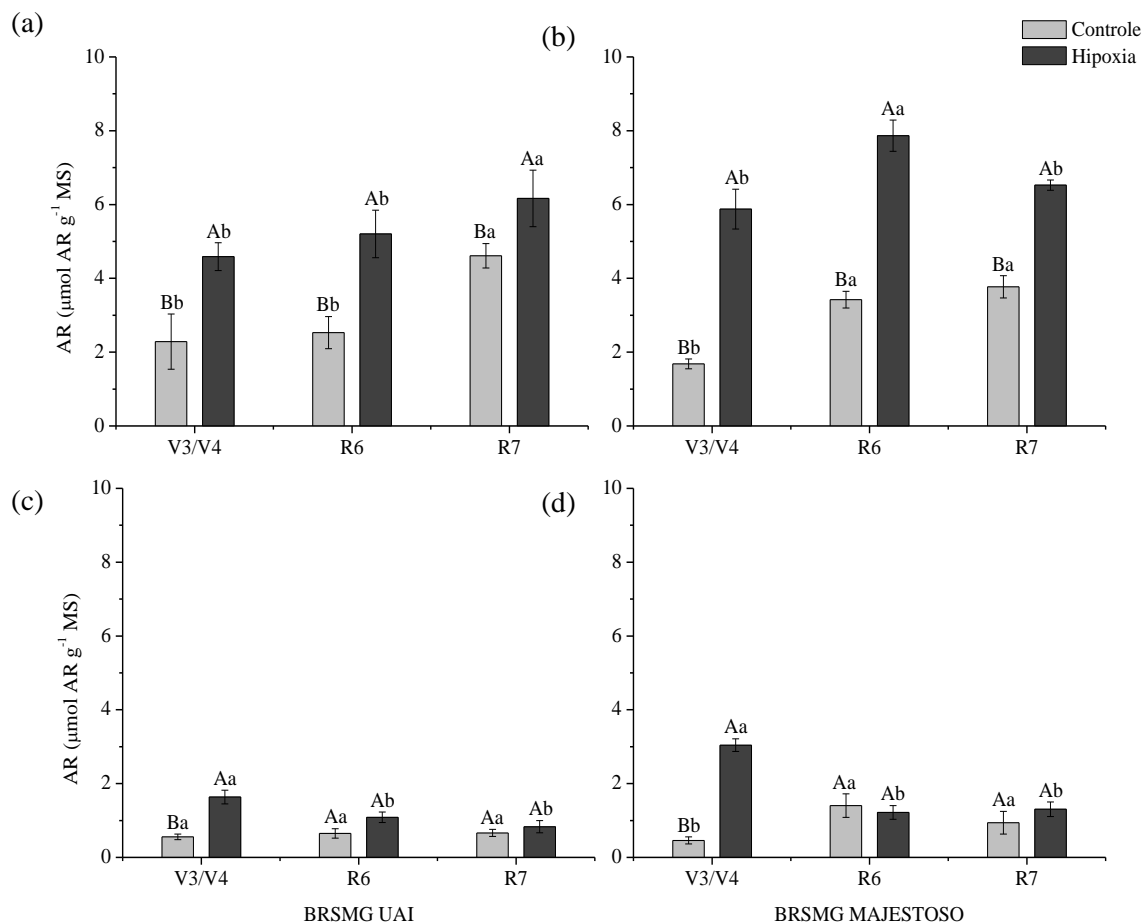
Fonte: do autor (2019).

As cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso apresentaram em condições hipóxicas, aumento nos teores de açúcar redutor (AR; FIGURA 9a e 9b) nas folhas, quando comparadas ao controle. Nas raízes de ambas as cultivares, os teores de AR foram maiores em plantas submetidas a hipóxia apenas em V3/V4, em R6 e R7 não houve diferenças entre os tratamentos (FIGURA 9c e 9d).

Quando comparadas as fases fenológicas, nas folhas da cultivar BRSMG-Uai os maiores teores de AR foram encontrados em R7 para ambos os tratamentos, não havendo alterações significativas entre V3/V4 e R6 (FIGURA 9a). Nas raízes, os teores de AR não diferiram entre V3/V4, R6 e R7 no controle. Já sob hipoxia, V3/V4 os teores de AR foram maiores que em R6 e R7 (FIGURA 9c). Na cultivar BRSMG-Majestoso, os menores teores de AR foram

observados em V3/V4, enquanto sob condições hipóxicas os maiores teores foram obtidos em R6 (FIGURA 9b). Nas raízes, os menores teores foram encontrados em V3/V4 para o controle, enquanto que, nessa mesma fase fenológica, sob hipóxia, observou-se os maiores valores, quando comparados a R6 e R7 (FIGURA 9d).

Figura 9 - Açúcar redutor em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

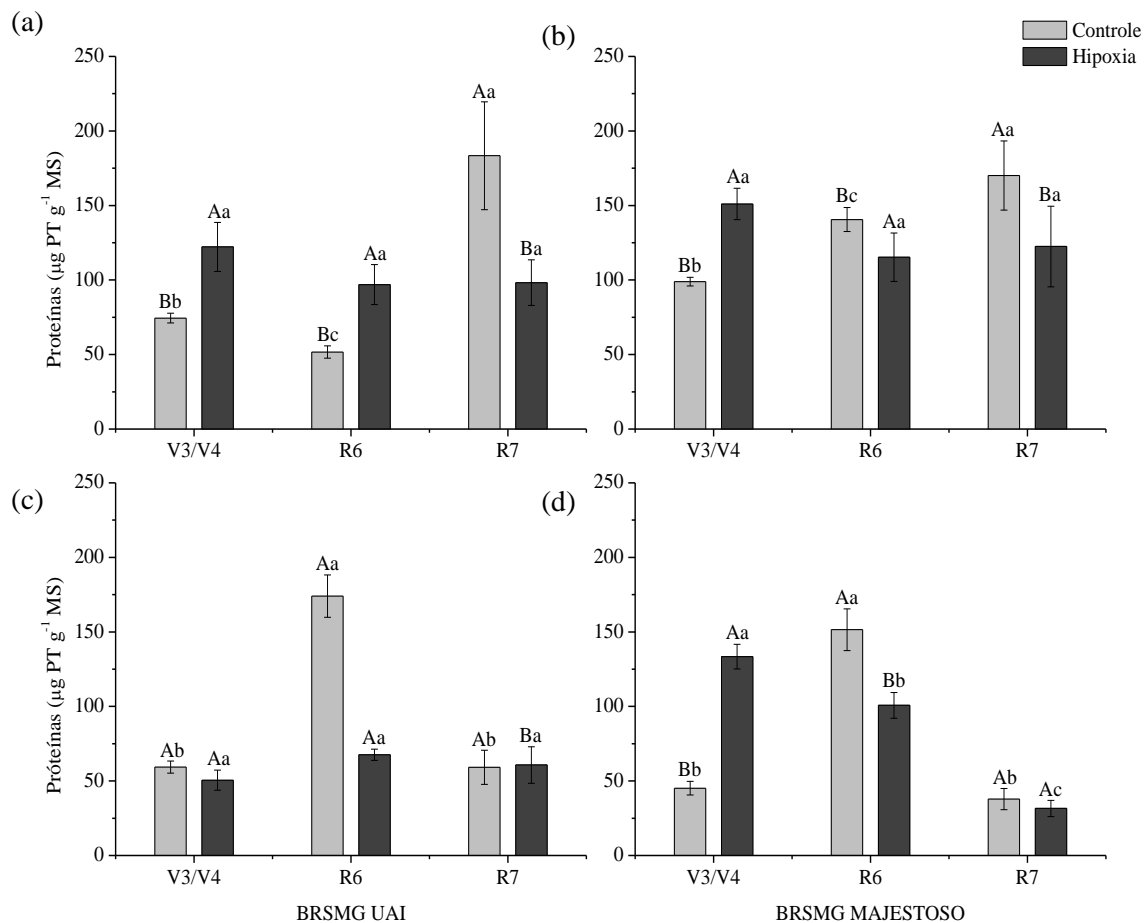
Os teores de proteínas nas folhas da cultivar BRSMG-Uai (FIGURA 10a) foi positivamente afetado pela hipóxia nos estágios V3/V4 e R6, que superaram o controle em 39% e 47%, respectivamente, ao passo que em R7, a baixa disponibilidade de oxigênio levou a redução de 46%. Nas raízes, em R6 constatou-se redução de 91% dos teores de proteínas em

relação ao controle, ao passo que não houve diferenças entre os tratamentos em V3/V4 e R7 (FIGURA 10c).

As folhas de BRSMG-Majestoso apresentaram sob hipóxia, aumento dos teores de proteínas de 35% em V3/V4, no entanto, para R6 e R7 houve redução em comparação ao controle (FIGURA 10b). As raízes seguem a mesma tendência para os teores de proteínas das folhas em V3/V4 e R6, com aumento de 66% e 33,5%, respectivamente. Em R7 não houve alterações dos teores de proteínas nas raízes em função do tratamento (FIGURA 10d).

Ao comparar o controle nas fases fenológicas, nas folhas da cultivar BRSMG-Uai, os maiores teores de proteínas foram obtidos em R7, seguido de V3/V4 e os menores teores em R6. Sob hipóxia, não houve diferenças significativas para os teores de proteínas entre as fases fenológicas (FIGURA 10a). Nas raízes, os teores de proteínas foram maiores em R6 quando comparados a V3/V4 e R7 que não divergiram entre si. Sob hipóxia, os teores de proteínas não diferem entre as fases fenológicas (FIGURA 10c). Para cultivar BRSMG-Majestoso, no controle os teores de proteínas foram menores em V3/V4, quando confrontados a R6 e R7. Já sob hipóxia, os teores de proteínas não apresentaram diferenças significativas para as fases fenológicas avaliadas (FIGURA 10b). Nas raízes, os teores de proteínas do controle seguiram a mesma tendência observada neste órgão para a cultivar BRSMG UAI, porém, com a submissão das plantas a hipóxia houve redução gradativa conforme o avanço das fases fenológicas (FIGURA 10d).

Figura 10 - Proteínas em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

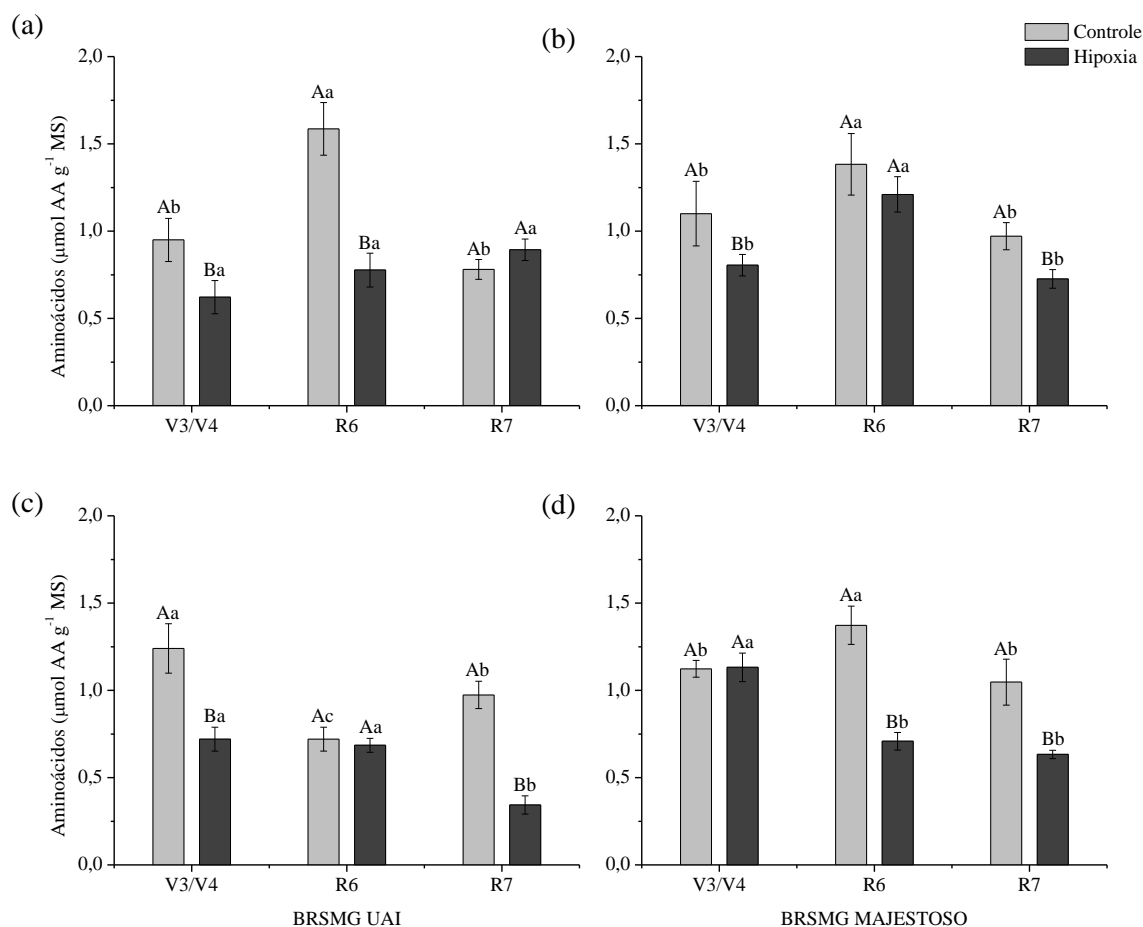
Os teores de aminoácidos (AA) nas folhas da cultivar BRSMG-Uai, apresentaram sob hipóxia, diferenças significativas para os tratamentos em V3/V4 e R6, com redução de 34% e 51%, respectivamente, quando comparadas ao controle. Em R7 não foi possível observar diferenças significativas entre os tratamentos (FIGURA 11a). Nas raízes houve uma redução nos teores de AA de 41% em V3/V4 e 64% em R7 em relação ao controle, ao passo que em R6 não houve diferenças significativas (FIGURA 11c).

As folhas da BRSMG-Majestoso, os teores de AA diminuíram em V3/V4 e R7 nas plantas submetidas a hipóxia, quando comparadas ao controle, ao passo que em R6 a disponibilidade de oxigênio, não interferiu nesta variável (FIGURA 11b). Nas raízes, os teores de AA das plantas submetidas a hipóxia foram menores em R6 e R7, quando comparados ao

controle, enquanto que em V3/V4 não houve diferenças significativas entre os tratamentos (FIGURA 11d).

Ao compararmos os teores de AA nas diferentes fases fenológicas, nas folhas da cultivar BRSMG-Uai observou-se maiores teores nas plantas controle em R6, superando os valores obtidos V3/V4 e R7 que foram estatisticamente semelhantes. Sob hipóxia, os teores de AA não diferiram entre V3/V4, R6 e R7 (FIGURA 11a). Nas raízes, os maiores teores de AA no controle, foram encontrados em V3/V4, seguido de R7 e os menores obtidos em R6. Com a submissão das plantas as condições hipóxicas, entre as fases fenológicas, apenas em R7 houve redução dos teores de AA (FIGURA 11c). Na cultivar BRSMG-Majestoso, o comportamento das folhas nas fases fenológicas foram semelhantes entre os tratamentos onde, R6 apresentou maiores teores de AA comparados a V3/V4 e R7 que não apresentaram diferenças entre si (FIGURA 11b). Nas raízes, os teores de AA em R6 superou os valores obtidos em V3/V4 e R7 que não diferiram significativamente. Já sob hipóxia, as fases fenológicas R6 e R7 tiveram seus teores de AA reduzidos quando comparados a V3/V4 (FIGURA 11d).

Figura 11 - Aminoácidos em folhas (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

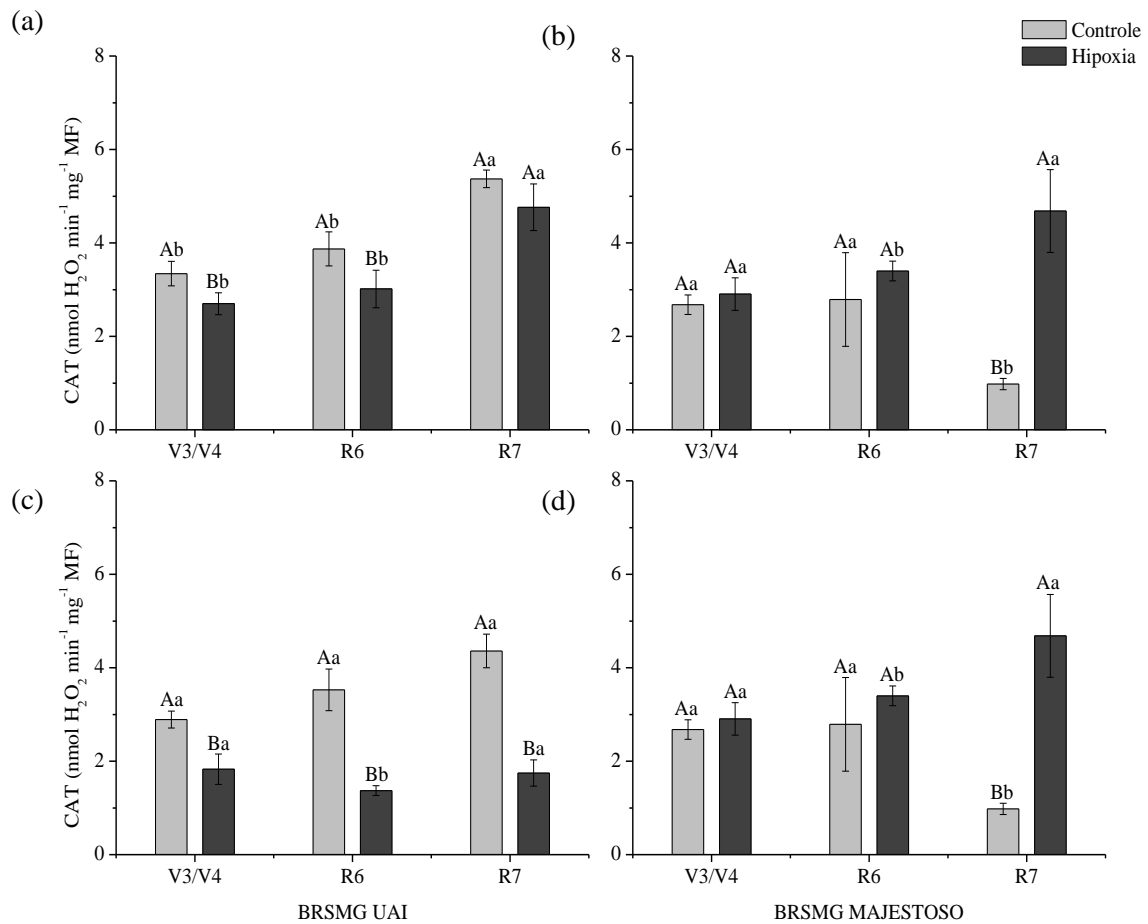
Fonte: do autor (2019).

A atividade da enzima catalase (CAT; FIGURA 12a), nas folhas cultivar BRSMG-Uai a atividade da CAT foi negativamente influenciada pela hipóxia em V3/V4 e R6 quando comparada ao controle, enquanto em R7, não houve diferença entre os tratamentos. Nas raízes, o a baixa disponibilidade de Oxigênio provocou uma queda na atividade desta enzima de 37% em V3/V4, 62% em R6 e de 60% em R7 em relação ao controle (FIGURA 12c).

Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, a atividade da CAT teve um aumento expressivo apenas em R7 (81%), para as demais fases fenológicas avaliadas não foram constatadas diferenças entre os tratamentos (FIGURA 12b). Nas raízes, em V3/V4 a atividade da CAT foi menor em plantas sob hipóxia, quando comparadas ao controle, no entanto, em R6 e R7 não houve diferenças significativas (FIGURA 12d).

Comparando as fases fenológicas nas folhas da cultivar BRSMG-Uai, ambos tratamentos apresentaram comportamento semelhante, onde os maiores valores foram observados em R7 em relação a V3/V4 e R6, que não diferiram entre si (FIGURA 12a). Nas raízes, a atividade da CAT não apresentou diferenças entre as fases fenológicas avaliadas no controle. Já sob condições hipóxicas a menor atividade foi constatada em R6, em comparação a V3/V4 e R7 (FIGURA 12c). A atividade da CAT nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso em R7 foi em média 64% menor do que a observada em V3/V4 e R6 para o controle, no entanto, sob hipóxia a atividade da CAT nesta mesma fase fenológica, apresentou valores 33% maiores que em V3/V4 e R6 (FIGURA 12b). Nas raízes, os menores valores de atividade da CAT, foram obtidos em R7 quando comparadas a V3/V4 e R6 que apresentaram valores semelhantes. Sob hipóxia não houve diferenças para atividade da CAT entre as fases fenológicas avaliadas (FIGURA 12d).

Figura 12 - Atividade da enzima catalase em folha (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

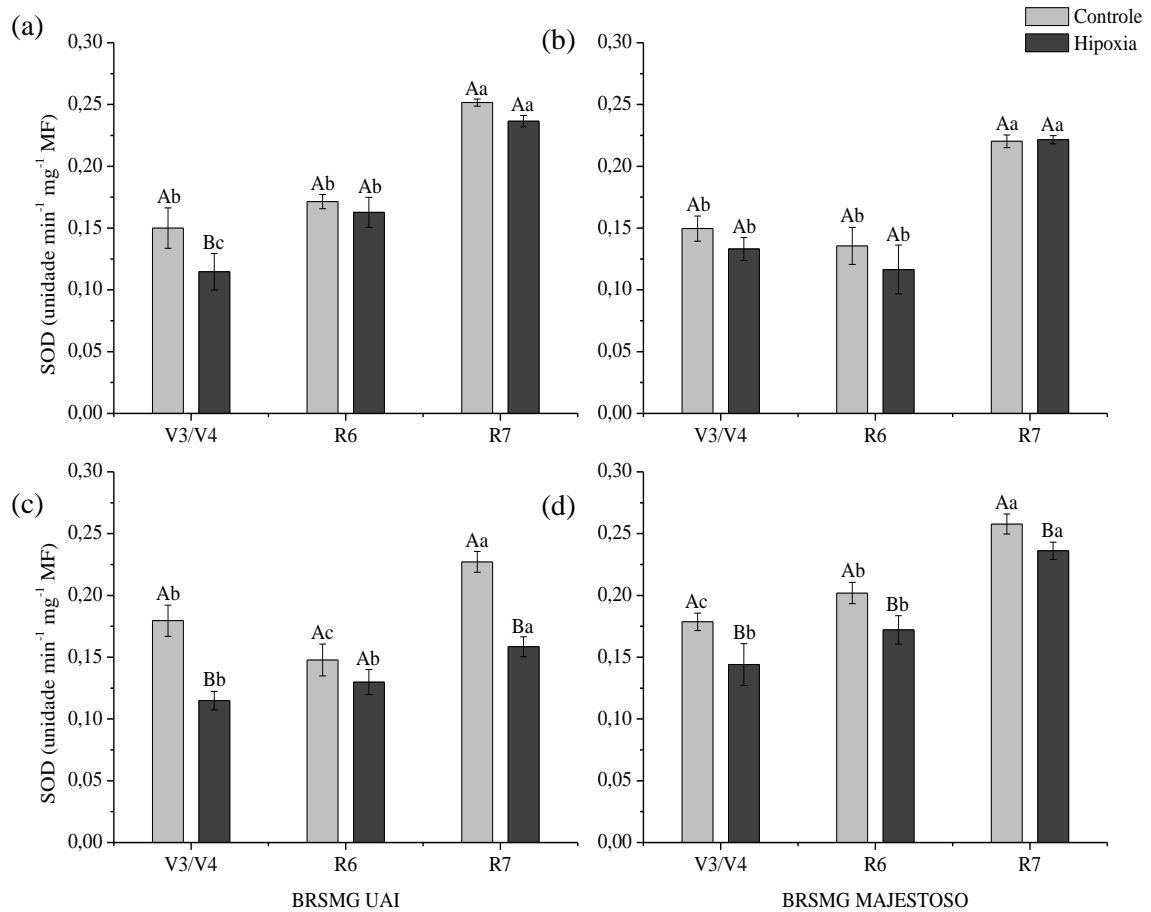
Para atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD; FIGURA 13), nas folhas da cultivar BRSMG-Uai (FIGURA 13a), a baixa disponibilidade de Oxigênio levou a redução da atividade apenas em V3/V4, para as demais fases fenológicas não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Nas raízes (FIGURA 13c), sob hipóxia observou-se diminuição na atividade da SOD em V3/V4 e R7, ao passo que não foram constatadas diferenças em R6.

Na cultivar BRSMG-Majestoso, o tratamento não afetou a atividade da SOD nas folhas, independentemente da fase fenológica (FIGURA 13b). Nas raízes, a atividade da SOD foi menor em condições hipóxicas em todas as fases fenológicas (FIGURA 13d).

Observou-se que, em relação as fases fenológicas avaliadas, a cultivar BRSMG-Uai, apresentou nas folhas do controle, maior atividade da SOD em R7 enquanto em V3/V4 e R6

não houve diferenças significativas. Já nos tratamentos submetidos a hipóxia, V3/V4 apresentou menores e R7 os maiores valores para a atividade desta enzima (FIGURA 13a). Nas raízes, a atividade da SOD apresentou diferenças entre as fases fenológicas avaliadas no controle, sendo que R7 apresentou maiores e R6 menores valores para a atividade da enzima. Já sob condições hipóxicas a maior atividade foi constatada em R7, em comparação a V3/V4 e R6 (FIGURA 13c). A cultivar BRSMG-Majestoso também apresentou nas folhas do controle maiores valores de atividade da SOD em R7, quando comparadas a V3/V4 e R6 que não diferiram entre si (FIGURA 13b). Nas raízes a atividade da SOD aumentou gradativamente de acordo com o avanço das fases fenológicas. Sob hipóxia, em V3/V4 e R6 a atividade da SOD foram estatisticamente semelhantes, sendo os maiores valores constatados em R7 (FIGURA 13d).

Figura 13 - Atividade da enzima dismutase do superóxido em folha (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

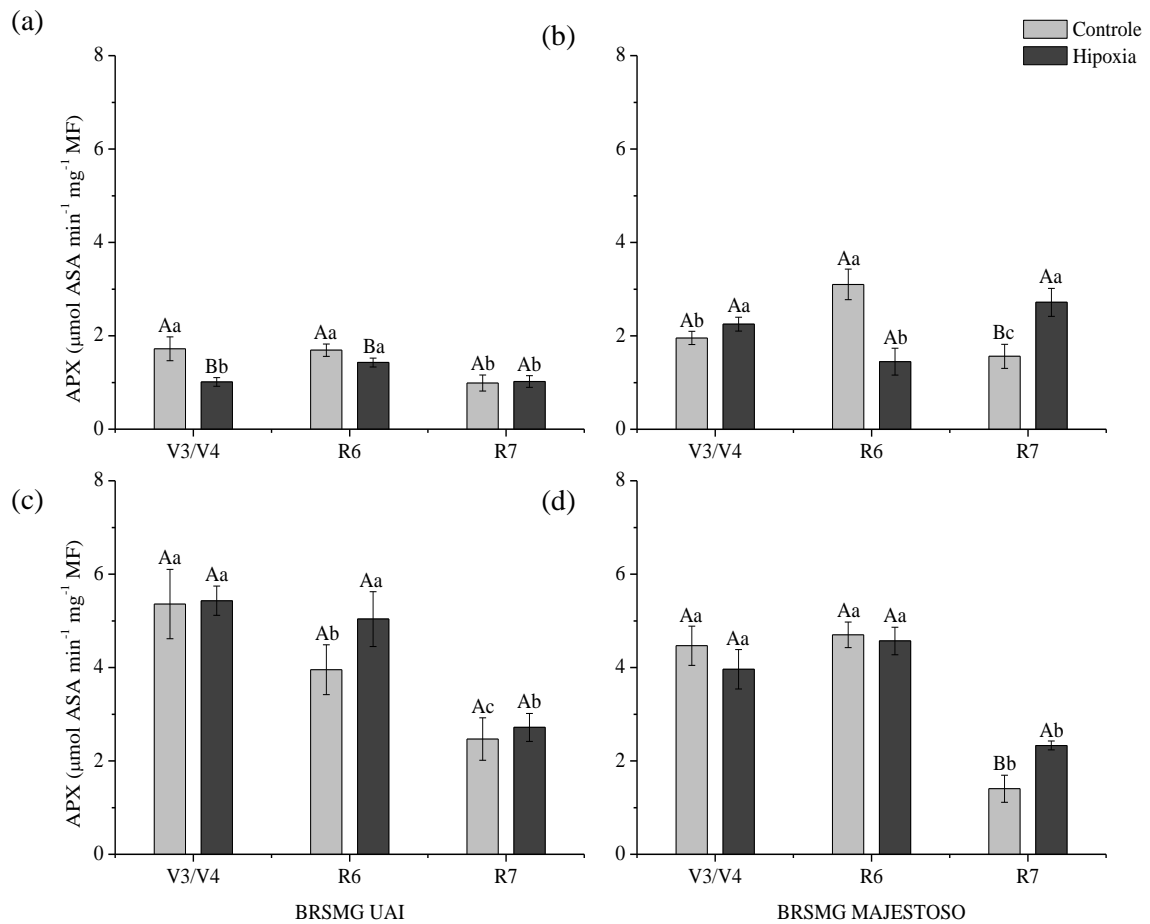
Fonte: do autor (2019).

Quando analisamos a atividade da peroxidase do ascorbato (APX; FIGURA 14), observou-se nas folhas da cultivar BRSMG-Uai houve redução sob hipóxia em V3/V4 e R6, quando comparados ao controle (FIGURA 14a). A atividade da APX nas raízes não apresentou diferenças entre os tratamentos nas diferentes fases fenológicas avaliadas (FIGURA 14c).

Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso não houve diferenças entre os tratamentos em V3/V4, porém, sob hipóxia, foram observadas redução de 54% da atividade da APX em R6 e aumento de 42% em R7, quando comparadas ao controle (FIGURA 14b). Nas raízes, não houve diferenças entre os tratamentos em V3/V4 e R6, no entanto, em R7 a atividade da APX é maior sob hipóxia em relação ao controle (FIGURA 14d).

Ao analisarmos as fases fenológicas, a atividade da APX em folhas da cultivar BRSMG-Uai, no controle, não houve diferenças significativas entre V3/V4 e R6, sendo maior que a observada em R7. Sob hipóxia, a atividade da APX em R6, superou os valores observados em V3/V4 e R7 que não diferiram entre si (FIGURA 14a). Quando analisamos a atividade da APX nas raízes da cultivar BRSMG-Uai, observou-se no controle, que houve redução gradativa na atividade desta enzima, conforme o avanço das fases fenológicas. As plantas submetidas a hipóxia não apresentaram diferenças entre V3/V4 e R6, porém a atividade em R7 foi menor (FIGURA 14c). Para as folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, no controle, a maior atividade da APX, foi obtida em R6 e a menor atividade em R7. Sob hipóxia, observou-se que V3/V4 e R7 não diferiram entre si, sendo a menor atividade notada em R6 (FIGURA 14b). Nas raízes, no controle, não houve diferença na atividade da APX em V3/V4 e R6, sendo constada redução média de 69% em R7. Comportamento semelhante foi observado sob hipóxia, onde R7 teve redução média de 48% na atividade da APX (FIGURA 14d).

Figura 14 - Atividade da enzima peroxidase do ascorbato em folha (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

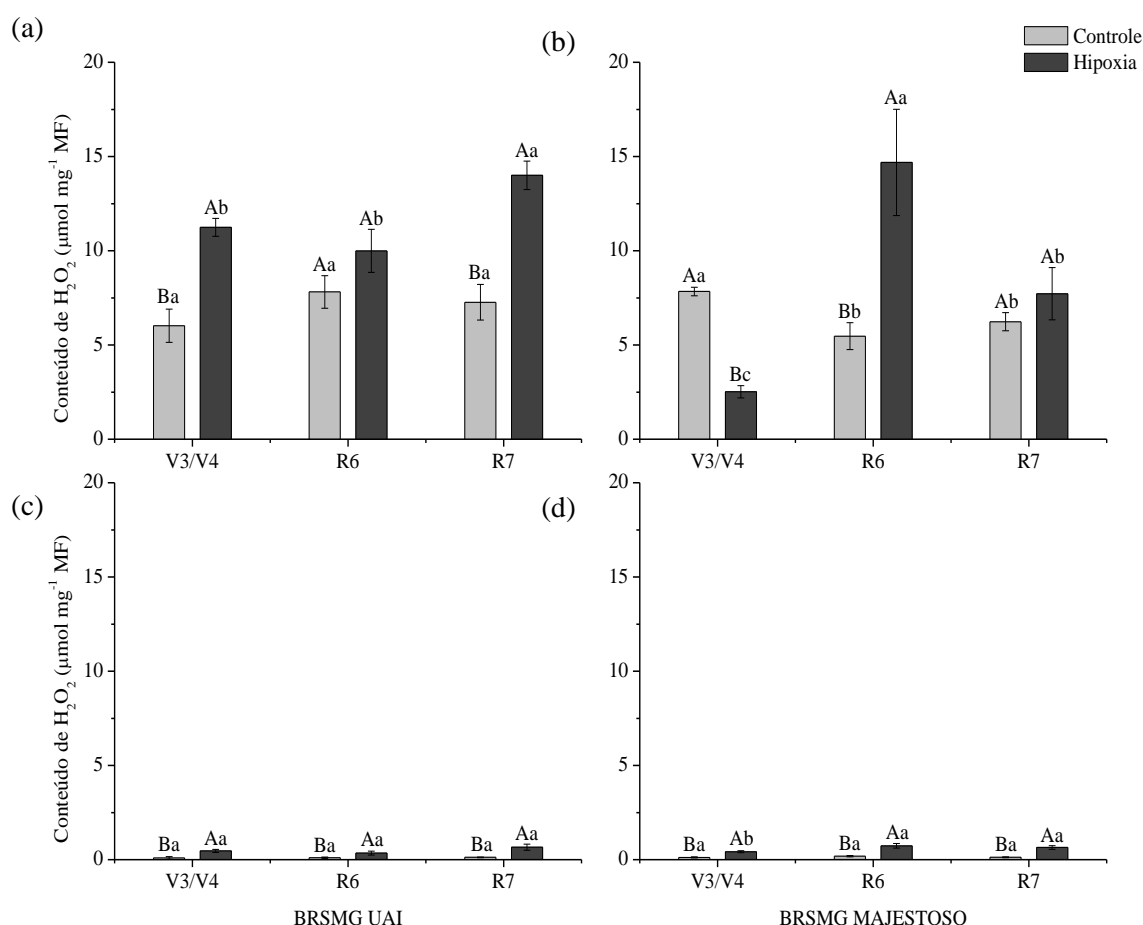
Fonte: do autor (2019).

Os resultados obtidos da quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 ; FIGURA 15), nas folhas da cultivar BRSMG-UAI, mostrou que houve um aumento dessa espécie reativa de Oxigênio (ERO) em V3/V4 e R7, nas plantas submetidas a hipóxia, enquanto em R6 não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Nas raízes, independente da fase fenológica ou da cultivar, constatou-se aumento do H_2O_2 em condições hipóxicas, quando comparadas ao controle (FIGURA 15c e 15d).

Para as folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, observou-se que houve redução de 68% do conteúdo de H_2O_2 em V3/V4, aumento de 62% em R6, ao passo que em R7 os tratamentos não diferiram entre si.

Quando comparada as fases fenológicas, nas folhas da cultivar BRSMG-Uai, os tratamentos foram estatisticamente semelhantes em V3/V4, R6 e R7. Sob hipóxia, os maiores valores de H_2O_2 , foram encontrados em R7, superando V3/V4 e R6 que não diferiram significativamente (FIGURA 15a). Nas raízes, o conteúdo de H_2O_2 não diferiu entre as fases fenológicas para ambos tratamentos e cultivares (FIGURA 15c e 15d). Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, maiores conteúdos de H_2O_2 foram observados em V3/V4 no controle, superando R6 e R7 que não apresentaram diferenças significativas. Sob hipóxia, o conteúdo de H_2O_2 foi maior em R6, seguido de R7, sendo os menores valores observados em V3/V4 (FIGURA 15b).

Figura 15 - Peróxido de hidrogênio na folha (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

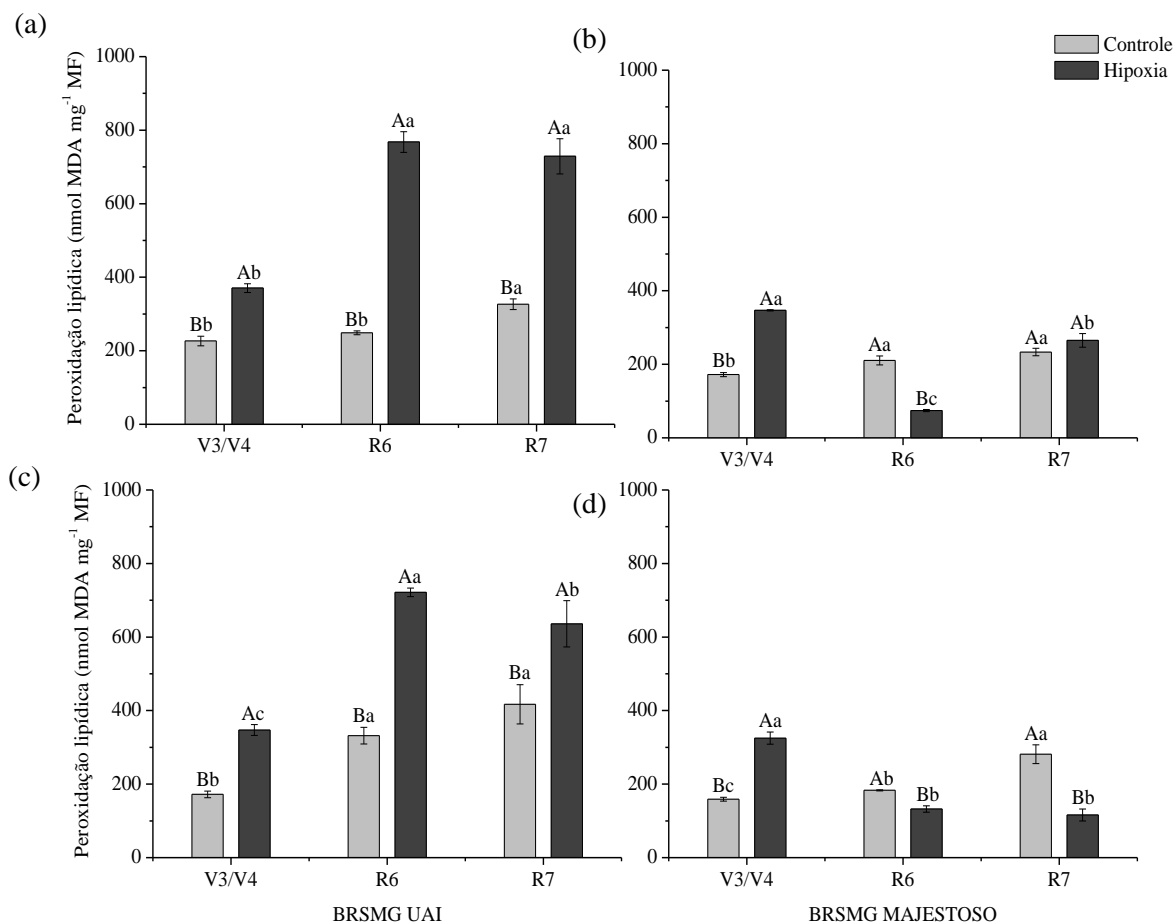
Fonte: do autor (2019).

A peroxidação lipídica (MDA; FIGURA 16), nas folhas da cultivar BRSMG-Uai aumentou nas plantas submetidas a hipóxia em todas as fases fenológicas avaliadas. Em V3/V4 o aumento foi de 39%, seguido de 55% em R7 e 66% em R6, quando comparadas ao controle. O mesmo comportamento foi observado para as raízes (FIGURA 16c).

Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, sob hipóxia, houve aumento do MDA em V3/V4 e redução em R6 em relação ao controle, ao passo que em R7 os tratamentos não diferenciaram entre si (FIGURA 16b). Nas raízes, o MDA aumentou em V3/V4 e reduziu em R6 e R7, quando comparados ao controle (FIGURA 16d).

Ao comparar as fases fenológicas para cada tratamento nas folhas da cultivar BRSMG-Uai, no controle, R7 apresentou maiores valores de MDA em relação a V3/V4 e R6 que não diferiram entre si. Sob hipóxia, V3/V4 apresenta os menores valores de MDA, superando R6 e R7 que foram estatisticamente semelhantes (FIGURA 16a). Nas raízes, observou-se que o controle apresentou maior conteúdo de MDA no estágio R7, enquanto que V3/V4 e R6 não diferiram significativamente (FIGURA 16c). Nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso, o controle não apresentou diferenças entre R6 e R7, e os menores valores de MDA foram observados em V3/V4. Já nas plantas sob hipóxia, há maior concentração no estágio V3/V4 seguido de R7 e os menores valores constatados em R6 (FIGURA 16b). Nas raízes, os valores de MDA foram maiores em R7, seguido de R6 e V3/V4 que apresentaram os menores valores. Já em condições hipóxicas, o conteúdo de MDA foi maior em V3/V4 e menor em R6 e R7 que apresentaram valores semelhantes (FIGURA 16d).

Figura 16 - Malondialdeído na folha na folha (a, b) e raízes (c, d) das cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



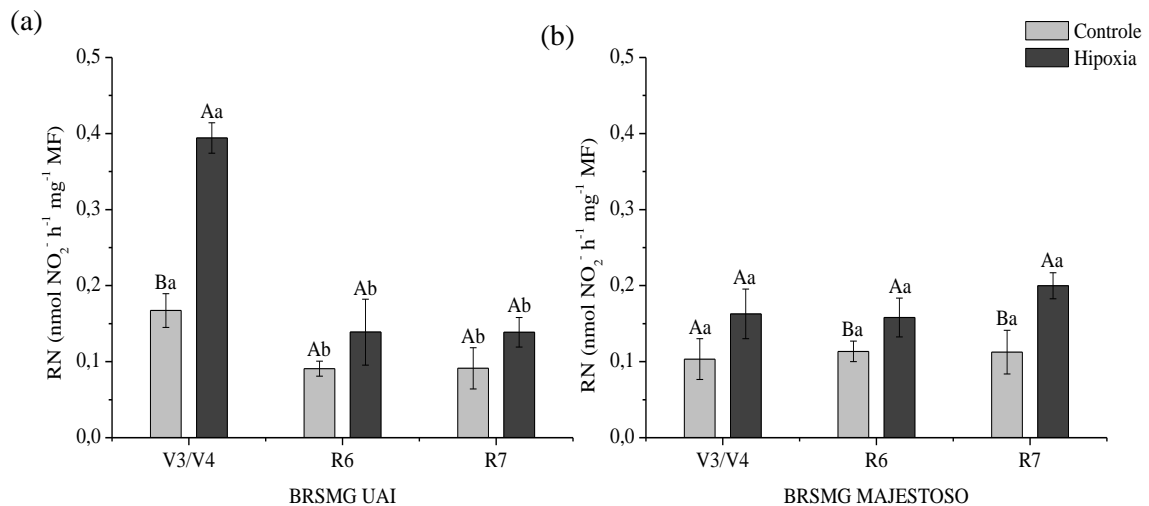
Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

A atividade da enzima redutase do nitrato (RN; FIGURA 17), nas raízes da cultivar BRSMG-UAI foi % maior sob hipóxia em V3/V4, quando comparada ao controle. Em R6 e R7, a disponibilidade de Oxigênio, não interferiu nesta variável. Na cultivar BRSMG-Majestoso, a atividade da RN foi positivamente influenciada pela baixa disponibilidade de Oxigênio, sendo em média 37% maior que no controle em todas as fases fenológicas avaliadas (FIGURA 17b).

Quando comparadas as fases fenológicas para cada tratamento, na cultivar BRSMG UAI, a atividade da RN foi maior em V3/V4 em ambos tratamentos. Para a cultivar BRSMG-Majestoso, não houve diferença significativa para atividade da RN entre V3/V4, R6 e R7.

Figura 17 - Redutase do nitrato em raiz da cultivar BRSMG-Uai (a) e BRSMG-Majestoso (b) submetidas a hipóxia nos estágios vegetativos V3/V4, R6 e R7.



Nota: Letras maiúsculas comparam a cultivar dentro de cada tratamento e letras minúsculas comparam a cultivar dentro de cada estágio vegetativo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

Fonte: do autor (2019).

Poucos estudos tentaram identificar os períodos críticos de sensibilidade a baixa disponibilidade de oxigênio (hipóxia) em plantas de feijão e não há relatos até o momento sobre respostas a hipóxia durante as diferentes fases fenológicas nas cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso. Neste trabalho, o efeito da hipóxia pela suspensão da aeração no cultivo hidropônico foi avaliado nessas cultivares através das variáveis de desempenho de crescimento, produção de grãos, trocas gasosas, metabolismo de carboidratos e da assimilação de nitrato (NO₃⁻). Mesmo as cultivares BRSMG-Uai e BRSMG-Majestoso possuindo características genéticas distintas, ambas apresentaram respostas similares quando submetidas a condições de hipóxia em diferentes fases fenológicas.

De um modo geral, as plantas submetidas a hipóxia tiveram redução no número de grãos por planta (NG; Figuras 3a e 3b), independente da fase fenológica em que a aeração foi suspensa. No entanto, a maior perda em produção de grãos ocorreu quando o período de hipóxia foi no estágio V3/V4 em ambas cultivares, sugerindo maior sensibilidade para a manutenção da produção quando a planta está em fase inicial de crescimento vegetativo. Embora a

diminuição do rendimento não tenha sido consequência de reduções na biomassa total da planta (Tabela 1), a imposição da hipóxia ocorreu durante o período de maior taxa de crescimento da cultura, quando em condições ideais (MIRALLES; SLAFER, 2007; ARISNABARRETA; MIRALLES, 2008). Na fase fenológica V3/V4 do feijoeiro, o terceiro trifólio está completamente expandido tendo início a ramificação da planta que depende de processos biossintéticos, resultando na incorporação de nova biomassa e macromoléculas, de modo dependente do C assimilado. Porém, para atender a demanda metabólica sob condições hipóxicas uma quantidade considerável de C é investida na expressão de proteínas específicas, conhecidas como polipeptídeos anaeróbicos (LIAO; LIN, 2001), o que implica em diminuição do C disponível para o crescimento.

Além disso, a redução das taxas fotossintéticas verificadas para ambas cultivares em todas as fases fenológicas avaliadas durante os períodos de restrição da oxigenação do sistema radicular (Figuras 4a e 4b), possivelmente contribuíram para a redução do NG, e ainda, da massa seca de grãos (MSG; Figuras 3c e 3d). Na cultivar BRSMG-Majestoso, o NG nas fases fenológicas R6 e R7 e a MSG podem ter sido influenciados pela redução no número (Tabela 2) e massa seca de folhas (Tabela 1), pois é nessas fases que ocorrem a abertura das primeiras flores (R6) e o surgimento das primeiras vagens (R7), respectivamente, sendo fundamental o suprimento adequado de C para atender a demanda dos novos drenos. Portanto, pode-se sugerir que a redução na formação de folhas durante os estágios vegetativos, quando as plantas preparam a maquinaria fotossintética para sustentar a fase reprodutiva, limitou a fonte de carboidratos essencial para a formação das vagens e enchimento dos grãos nesta cultivar, além de causar diminuição do número de axila foliares que são estruturas físicas necessárias para a formação de flores e, posteriormente, das vagens.

A redução da fotossíntese sob deficiência de O_2 no sistema radicular possivelmente ocorre pelo fechamento estomático, diminuição da atividade da enzima de carboxilação ou redução do conteúdo de clorofila (MIELKE et al., 2003). Neste trabalho, a redução das taxas fotossintéticas para ambas cultivares (Figura 4a e 4b) pode estar associada a diminuição da condutância estomática (g_s ; Figuras 4c e 4d) ocasionada pelo aumento do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tanto nas folhas (Figuras 15a e 15b), quanto nas raízes (Figuras 15c e 15d). O acúmulo de H_2O_2 na raiz pode causar inibição da atividade das aquaporinas que são proteínas de canais de água (YE; STEUDLE, 2006), diminuindo a condutividade hidráulica do sistema radicular, afetando diretamente a condutância estomática (MAUREL et al., 2016). Além das taxas fotossintéticas, a diminuição da condutância estomática afeta as taxas transpiratórias (E) e a concentração de carbono na câmara subestomática (C_i), limitando as fases difusivas e

bioquímicas da fotossíntese (FARQUHAR; SHARKEY, 1982). De fato, neste trabalho houve diminuição da g_s (Figuras 4c e 4d), de E (Figuras 4e e 4f) e de C_i (Figuras 4g e 4h), para ambas cultivares e em todas as fases fenológicas avaliadas.

A diminuição das taxas fotossintéticas na cultivar BRSMG-Uai pode ainda, estar relacionada a degradação de clorofila a (Figuras 5a e 5b) e b (Figuras 5c e 5d) e a redução dos teores de carotenoides totais em V3/V4 e R6. Menores teores de pigmentos fotossintéticos acarretam em menor captação de energia durante a fase fotoquímica da fotossíntese (KALAJI et al., 2016), podendo ocorrer devido ao aumento da peroxidação lipídica na folha (SAKAKI et al., 1983), como foi encontrado neste trabalho (Figura 16a e 16b). Ao contrário, na cultivar BRSMG-Majestoso, sob hipóxia, não houve alteração nos teores de pigmentos nas fases V3/V4 e R6, porém, em R7 há um aumento nos teores de clorofila a (Figuras 5b), b (Figura 5d) e carotenoides (Figuras 5f). Isso pode estar correlacionado a maior atividade da redutase do Nitrato nas raízes (RN; Figura 17b) ao mesmo tempo em que são verificadas diminuição do teor de proteínas (Figura 10b) e aminoácidos (Figura 11b) nas folhas, permitindo inferir que Nitrogênio assimilado provavelmente foi investido na síntese de novos pigmentos fotossintéticos. Uma segunda hipótese seria a de que sob condições ideais, na fase fenológica R7, tem início a degradação de pigmentos, contribuindo para remobilização de Nitrogênio para os grãos, o que não ocorreu sob hipóxia (Figura 5), situação condizente com o menor NG (Figura 3b) e MSG (Figura 3d) observados.

Os teores de amido (Figuras 6a e 6b), açúcares solúveis totais (AST; Figuras 7a e 7b), sacarose (Figuras 8a e 8b) e açúcares redutores (AR; Figura 9a e 9b) nas folhas de ambas as cultivares aumentaram sob hipóxia na fase fenológica V3/V4. No entanto, seria esperado uma diminuição desses carboidratos, causada por uma estimulação da glicólise, na tentativa de suprir a demanda de ATP da planta, diante da diminuição da disponibilidade de O_2 . O acúmulo do piruvato (produto final da via glicolítica) pode acionar a via fermentativa, fundamental para regeneração do NAD^+ utilizado como coenzima na glicólise. Assim, é possível que o aumento dos carboidratos não estruturais em V3/V4, que prioritariamente atenderia as demandas de crescimento vegetativo, ocorra devido a diminuição da translocação de fotoassimilados para as raízes. Para a cultivar BRSMG-Uai, o aumento dos carboidratos em V3/V4 se mantém para as demais fases fenológicas avaliadas (Figuras 6a, 7a, 8a e 9a), e a diminuição da translocação de fotoassimilados provavelmente também ocorreu R6 e R7, bem como pode justificar o aumento nos teores de AR em R7 nas folhas da cultivar BRSMG-Majestoso.

Nas raízes, a imposição da hipóxia não alterou os teores de carboidratos para a cultivar BRSMG-Uai. Já para a cultivar BRSMG-Majestoso, em V3/V4 foram observados aumento de

amido (Figura 6), AST (Figura 7), Sacarose (Figura 8) e AR (Figura 9). Em contrapartida, em R6 constatou-se redução para os teores de amido e de sacarose em R7, o que pode estar relacionado a mobilização de C neste órgão para atender a demanda metabólica, visto que com a redução de *A* (Figura 4), também diminui a translocação de fotoassimilados para os drenos. Variações nos teores de carboidratos podem ainda, ser atribuídos a diferentes graus de degradação de amido, alocação do C em massa seca e aproveitamento no metabolismo respiratório dependentes da idade da planta.

É importante considerar que o acionamento da via fermentativa por períodos prolongados promove o acúmulo de produtos oxidativos tóxicos, como o acetaldeído (VAN TOAI e BOLLES, 1991; BIEMELT et al. 1998) causando injúrias as plantas. A extensão do estresse oxidativo nos tecidos vegetais pode ser determinada pela atividade das enzimas do sistema antioxidante. A atividade da dismutase do superóxido (SOD) nas folhas das cultivares avaliadas neste estudo, apresentou redução em V3/V4 para a cultivar BRSMG-Uai (Figura 13a), embora o aumento do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tenha sido observado para ambas cultivares e em todas as fases fenológicas avaliadas, dando indícios que a formação do H_2O_2 pode ter sido proveniente da via fotorrespiratória. A fotorrespiração é iniciada pela atividade oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato-carboxilase/oxigenase (RUBISCO), que aumenta sob condições estressantes de cultivo (PETERHANSEL et al., 2010). Durante a operação da via fotorrespiratória, o glicolato é oxidado em glioxilato e H_2O_2 pela glicolato oxidase nos peroxissomos (SLESAK et al., 2007).

O H_2O_2 é uma EROs moderadamente reativa cujo pequeno tamanho permite-lhe atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes, difundindo os danos e atuando como um mensageiro da condição estressante. (GADJEV et al., 2008; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). Em condições fisiológicas ótimas, existe um equilíbrio entre a produção de H_2O_2 e a atividade de enzimas do sistema antioxidante, porém, neste trabalho, a exposição das plantas a hipóxia resultou em menor atividade da enzima catalase (CAT; Figura 13) e peroxidase do ascorbato (APX; Figura 14) em V3/V4 e R6 para cultivar BRSMG-Uai. No entanto, nas folhas desta cultivar, o funcionamento do sistema antioxidante não foi eficiente a ponto de evitar o aumento da peroxidação lipídica, após a suspensão da aeração, em nenhuma das fases fenológicas avaliadas. Para a cultivar BRSMG-Majestoso embora a atividade da CAT tenha reduzido em R7, o aumento da atividade da APX pode ter contribuído para prevenir o aumento da peroxidação lipídica nesta fase fenológica. Já para a fase R6, a diminuição da atividade da APX e da peroxidação lipídica, dão indícios que embora tenha sido constatado aumento do conteúdo de H_2O_2 nesta fase, outros componentes do sistema

antioxidante podem ter sido fundamentais na remoção desta ERO. Tais resultados evidenciam que a cultivar BRSMG-Majetoso possui nas folhas, um sistema antioxidante mais eficiente quando comparado a BRSMG-Uai, especialmente durante as fases fenológicas R6 e R7.

As enzimas do sistema antioxidante (FIGURAS 12, 13 e 14) de ambas as cultivares, mostraram baixa atividade na raiz e aumento no conteúdo de H_2O_2 , em todas as fases fenológicas analisadas (V3/V4, R6 e R7) o que comprova a existência de um sistema antioxidante pouco eficiente nas raízes para a remoção das EROs. O acúmulo de H_2O_2 no sistema radicular está relacionado com redução da condutância hidráulica por inibição das aquaporinas nas células das raízes, acarretando em redução da condutância estomática e consequente prejuízo à fotossíntese (SILVA et al. 2015).

O aumento da atividade da redutase do nitrato nas raízes (RN; Figura 17a e 17b) de ambas cultivares em todas as fases fenológicas avaliadas pode estar relacionada a regeneração de poder redutor (NAD^+), como alternativa as vias fermentativas, sendo menos prejudicial à planta (CARVALHO et al., 2015). Além disso, a RN contribui para o aumento da síntese de compostos nitrogenados. Embora tenha sido observada nas raízes redução nos teores de aminoácidos em V3/V4 para ambas cultivares, o maior teor de proteínas nas folhas (Figura 10a e 10b) sugere esses compostos podem ter sido remobilizados até esse órgão contribuindo para a síntese de proteínas. Este aumento no teor de proteína pode estar ligado ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes em folhas na cultivar BRSM-Majetoso, o que corrobora o fato de esta cultivar possuir menores valores de peróxido de hidrogênio (Figura 15b) para essa fase fenológica. A maior atividade da RN também pode estar relacionada ao aumento no teor de proteínas na raiz da cultivar BRSMG-Majetoso, em V3/V4.

5 CONCLUSÃO

- A cultivar BRSMG-Uai apresentou maior sensibilidade a baixa disponibilidade de oxigênio no sistema radicular em comparação a cultivar BRSMG-Majestoso.
- Constatou-se que a fase fenológica V3/V4 é a mais crítica para a produtividade quando o feijoeiro é submetido a hipóxia.
- A cultivar BRSMG-Majestoso mostrou-se mais tolerante ao alagamento por produzir maior número de grãos comparado a cultivar BRSMG-Uai.

REFERÊNCIAS

- ARISNABARRETA, S.; MIRALLES, D. J. Critical period for grain number establishment of near isogenic lines of two- and six-rowed barley. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 107, n. 3, p.196-202, jun. 2008. Elsevier BV.
- ARNELL, N. W.; GOSLING, S. N. The impacts of climate change on river flood risk at the global scale. **Climatic Change**, [s.l.], v. 134, n. 3, p.387-401, 6 mar. 2014.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L. A. C. J. Flooding stress: aclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 313-339, June 2008.
- BIEMELT, S; KEETMAN, U; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.
- BLOKHINA, O.; FAGERSTEDT, K. V. Oxidative metabolismo, ROS and NO under oxygen deprivation. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, n, 5, p. 359-373, May 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein biding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 72, n. ½, p. 248-254, May 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation methods. **Enzymology**, San Diego, v. 52, p. 302-310, Feb. 1978.
- BUESCHER, R. W.; FURMANSKI, R. J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of woolliness in peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 1, p. 264-266, Jan./Feb. 1978.
- CARBONELL, S. A. M. et al. Common bean cultivar with high grain quality. Crop Breeding and Applied Biotechnology. **IAC Milênio**, v. 14, p. 273-276, 2014.
- DE CARVALHO, P. A. et al. Nitrogen metabolism in the roots of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) plants supplied with nitrate or ammonium as nitrogen source during hypoxia. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 12, p. 1278, 2015.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 234 p., 2009.
- CAVALCANTI, F. R. et al. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, Hoboken, v. 163, n. 3, p. 563-571, Sept. 2004.
- COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: café, primeiro levantamento, janeiro 2017: volume 4**. Brasília: Conab, 2017. 98 p.
- DEBORTOLI, N. S. et al. An index of Brazil's vulnerability to expected increases in natural flash flooding and landslide disasters in the context of climate change. **Natural Hazards**, [s.l.], v. 86, n. 2, p.557-582, 4 jan. 2017.

- DISCHE, Z. **General color reactions**. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. Carbohydrate chemistry. New York: Academic Press, p. 477-520, 1962.
- EVANS, D. Aerenchyma formation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 161, n. 1, p. 35-49, Jan. 2004.
- FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual review of plant physiology**, v. 33, n. 1, p. 317-345, 1982.
- GADJEV, I.; STONE, J. M.; GECHEV, T. S. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. **International review of cell and molecular biology**, v. 270, p. 87-144, 2008.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; REIS, S. K. Superoxide dismutases: I., occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidante machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p. 909-930, Dec. 2010.
- GUNAWARDENA, A. et al. Characteruzation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.). **Planta**, Berlin, v. 212, n. 2, p. 205-214, Apr. 2001.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Oxford University, 543 p. 1989.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tabaco leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450-455, June 1987.
- HE, C. J.; DREW, M. C.; MORGAN, P. W. Inductions of enzymes associated with lysigenous aerenchyma formation in roots of *Zea mays* L. during hypoxia and nitrogen starvation. **Plant Physiology**, Rockville, n. 105, p. 861-865. 1994
- HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, Berkeley, v.347, p.1-32, 1950.
- IRFAN, M. et al. Physiological and biochemical changes in plants under waterlogging. **Protoplasma**, Wien, v. 241, n. ¼, p. 3-17, May 2010.
- KALAJI, H. M. et al. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, n. 1, p. 13-66, 2017.
- KARUPPANAPANDIAN, T. et al. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709, 2011.
- LIAO, C. T.; LIN, C, H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, Beijing, v. 25, n. 2, p. 148-157, Apr. 2001.

- LIU, M. Y. et al. Spermidine Enhances Waterlogging Tolerance via Regulation of Antioxidant Defence, Heat Shock Protein Expression and Plasma Membrane H⁺-ATPase Activity in *Zea mays*. **Journal Of Agronomy And Crop Science**, [s.l.], v. 200, n. 3, p.199-211, 1 abr. 2014.
- MARKOCIC, O.; HEINRICHOVÁ, K.; LENKEY, B. Pectolytic enzymes from banana. **Collection Czechoslovak Chemistry Community**, London, v. 40, p. 769-774, 1975.
- MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; RODRIGUES, O. Aquaporins and plant transpiration. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 39, n. 11, p.2580-2587, 19 set. 2016.
- MIELKE, M. S. et al. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental And Experimental Botany**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.221-231, dez. 2003.
- MIRALLES, D. J.; SLAFER, G. A. Paper presented at international workshop on increasing wheat yield potential, CIMMYT, Obregon, Mexico, 20–24 March 2006 Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? **The Journal Of Agricultural Science**, [s.l.], v. 145, n. 02, p.139-149, 13 fev. 2007.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, Mar. 1959.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, Aug. 1981.
- NASCIMENTO et al. Physiological and agronomical responses of common bean subjected to tryptophol, **Annals of Applied Biology**, v. 168, n. 2, p. 192-202, Mar. 2016.
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 375-380, May 1944.
- PETERHANSEL, C.; MAURINO, V. G. Photorespiration redesigned. **Plant physiology**, v. 155, n. 1, p. 49-55, 2011.
- SAKAKI, T.; KONDO, N.; SUGAHARA, K. Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens. **Physiologia Plantarum**, v. 59, n. 1, p. 28-34, 1983.
- SLESÁK, Ireneusz et al. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica Polonica-English Edition**, v. 54, n. 1, p. 39, 2007.
- SILVA, A. R. **Tolerancia ao encharcamento**. In: Simpósio sobre alternativas ao Sistema tradicional das várzeas do estado do Rio Grande do Sul, 22 p. 1984.
- SILVA, E. F. et al. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada a exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009.
- SILVA et al. Short-term physiological changes in roots and leaves of sugarcane varieties exposed to H₂O₂ in root medium. **J Plant Physiol**, v. 177; n. 1, p. 93-99, Jan 2015.

SUBBAIAH, C. C.; SACHS, M. M. Review article: molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 2, p. 119-127, Jan. 2003.

SUMMER, J. E.; RATCLIFFE, R. G.; JACKSON, M. B. Anoxia tolerance in the aquatic monocot potamogeton pectinatus: absence of oxygen stimulates elongation in association with an unusually large Pasteur effect. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 349, p. 1413-1422, Aug. 2000.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 22, n. 2, p. 280-283, Feb. 1968.

VAN TOAI, T. T.; BOLLES, C. S. Postanoxic injury in Soybean (*Glycine max*) seedlings. **Plant Physiology** v. 97, p. 588-92, 1991.

VARTAPETIAN, B. B. Plant anaerobic stress as a novel trend in ecological physiology, biochemistry, and molecular biology: 2. further development of the problem. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 53, n. 6, p. 711-738, Sept. 2006.

VARTAPETIAN, B. B.; JACKSON, M. B. Plant adaptations to anaerobic stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 79, p. 3-20, Jan. 1997.

VILAS-BOAS, E. V. de B. **Modificações pós-colheita de bababas 'Prata' (Musa acuminata x Musa balbisiana Grupo AAB) g-irradiada**. 1975. 73 f. Dissertação (mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

VRANOVÁ, E. et al. Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotina tabacum* leaves acclimated to oxidative stress. **Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 99, n. 16, p. 10870-10875, Aug. 2002.

YE, Q.; STEUDLE, E. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in corn roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 4, p. 459-470, 2006.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZANANDREA, I. et al. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 57, n. 9, p. 661-669, 2010.