

JULIANA DOMINGUES LIMA

**CRESCIMENTO E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FOTOSSINTÉTICAS
DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) SOB DEFICIÊNCIA DE
NITROGÊNIO E FÓSFORO**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Curso de Fisiologia
Vegetal, para obtenção do título de
“Magister Scientiae”.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
ABRIL - 1998**

JULIANA DOMINGUES LIMA

**CRESCIMENTO E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FOTOSSINTÉTICAS
DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) SOB DEFICIÊNCIA DE
NITROGÊNIO E FÓSFORO**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Curso de Fisiologia
Vegetal, para obtenção do título de
“Magister Scientiae”.**

APROVADA: 5 de dezembro de 1997.

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva
(Conselheiro)

Prof. Paulo Cezar Rezende Fontes
(Conselheiro)

Prof. Fábio Murilo da Matta

Prof. Antônio Américo Cardoso

Prof. Paulo Roberto Mosquim
(Orientador)

Aos meus pais
Prentice e Darcy.

Às minhas irmãs
Walma e Claudia.

Ao meu cunhado
João.

À minha sobrinha
Tamíries.

AGRADECIMENTO

A Deus, por ter-me dado a vida, forças e sabedoria nas horas difíceis e alegria em muitos outros momentos.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao seu Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização do curso.

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

Ao Professor Paulo Roberto Mosquim, pela amizade, confiança e orientação.

Ao Professor Fábio Murilo da Matta, pela atenção e pelas críticas e sugestões.

Aos Professores Marco Aurélio Pedron e Silva e Paulo Cezar Rezende Fontes, pelas sugestões e correções técnicas.

Ao Professor Antônio Américo Cardoso, pela atenção e pelos ensinamentos.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da UFV, pela minha formação.

Aos funcionários da UFV, pelo auxílio na realização dos experimentos.

À Professora Kuniko Iwamoto Haga, por ter-me incentivado na pesquisa e na realização do curso de pós-graduação.

Às minhas irmãs e ao meu cunhado, pelo incentivo e carinho.

Aos meus pais, Prentice e Darcy, pelo imenso amor, pelo apoio, pela

educação e pelo incentivo; sei que certamente não teria como agradecer pelo sacrifício diário para que nada me faltasse e por tão valiosa presença em minha vida.

Aos meus demais familiares e aos meus amigos, pelo incentivo prestado.

Ao Wilson e ao Iury, pelo amor, pelo carinho, pela compreensão e amizade sempre presentes e por tudo que conquistamos e compartilhamos nesses anos de convivência.

BIOGRAFIA

JULIANA DOMINGUES LIMA, filha de Prentice de Lima Vieira e Darcy Domingues Vieira, nasceu no dia 4 de julho de 1972, na Cidade de Ilha Solteira, Estado de São Paulo.

Em março de 1990, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), “Campus” de Ilha Solteira, concluindo-o em dezembro de 1994.

Em março de 1995, ingressou no Curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Estado de Minas Gerais.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
EXTRATO	x
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1- CRESCIMENTO E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FOTOSSINTÉTICAS DO FEJJOEIRO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) SOB DEFICIÊNCIA ISOLADA OU SIMULTÂNEA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO	3
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. Efeito do nitrogênio	3
1.2. Efeito do fósforo	5
1.3. Efeito simultâneo do nitrogênio e fósforo	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Material vegetal e condições de cultivo	9
2.2. Delineamento experimental	11
2.3. Avaliações	11
2.3.1. Taxa fotossintética líquida	11
2.3.2. Taxa fotossintética líquida máxima	11
2.3.3. Características do crescimento	12
2.3.4. Características bioquímicas	12
2.3.4.1. Teor de pigmentos foliares	12
2.3.4.2. Teor de fósforo inorgânico foliar	13
2.3.4.3. Teor de nitrogênio total foliar	13

2.3.4.4. Concentrações de nitrogênio (aminoácidos, ureídeos e nitrato) e de fósforo inorgânico no exsudato do xilema	14
2.4. Análises estatísticas	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
3.1. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre o crescimento	16
3.2. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre os teores foliares de pigmentos, fósforo inorgânico e nitrogênio total	19
3.3. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre os componentes da seiva do xilema	23
3.4. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre a taxa fotossintética líquida e a taxa fotossintética líquida máxima	26
4. RESUMO E CONCLUSÕES	29
CAPÍTULO 2- CARACTERÍSTICAS DA CINÉTICA DE EMISSÃO DA FLUORESCÊNCIA RÁPIDA E DA FOTOSSÍNTESE DO FEIJOEIRO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) SOB DEFICIÊNCIA ISOLADA OU SIMULTÂNEA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO	31
1. INTRODUÇÃO	31
1.1. Efeito do nitrogênio	31
1.2. Efeito do fósforo	33
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1. Material vegetal e condições de cultivo	36
2.2. Delineamento experimental	38
2.3. Avaliações	38
2.3.1. Características da cinética de emissão da fluorescência rápida ...	38
2.3.2. Características da fotossíntese	38
2.4. Análises estatísticas	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre as características da cinética de emissão da fluorescência rápida	40
3.2. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre as características da fotossíntese	45
4. RESUMO E CONCLUSÕES	54
RESUMOS E CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
APÊNDICE	70

LISTA DE ABREVIATURAS

A	taxa fotossintética líquida
A_{\max}	taxa fotossintética líquida máxima
AF	área foliar por planta
AFEt	área foliar específica total
AFEd	área foliar específica em disco
AAX	aminoácidos no exsudato da seiva do xilema
adeq.	adequado Cl a
	clorofila a
Cl b	clorofila b
Cl ($a+b$)	clorofilas totais
Cl (a/b)	razão clorofila a/b
Car	carotenóides
C_i	concentração subestomática de CO_2
CV	coeficiente de variação
DAE	dias após a emergência
def	deficiente
E	época
F_0	fluorescência inicial
F_m	fluorescência máxima

F_v	fluorescência variável
F_v/F_m	razão entre fluorescências variável e máxima
g_s	condutância estomática
MSF	massa seca dos folíolos
MSP	massa seca dos pecíolos
MSC	massa seca do caule
MSR	massa seca da raiz
MST	massa seca total
N	nitrogênio
NF	número de folhas por planta
N e P	nitrogênio e fósforo
NO_3^-	nitrato
NTN	nitrogênio total no primeiro trifólio completamente expandido
NTV	nitrogênio total no último trifólio completamente expandido
NIX	nitrato no exsudato da seiva do xilema
P	fósforo
PaR	relação entre a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz
Pi	fósforo inorgânico
PiTN	fósforo inorgânico no primeiro trifólio completamente expandido
PiTV	fósforo inorgânico no último trifólio completamente expandido
PiX	fósforo inorgânico no exsudato da seiva do xilema
QM	quadrado médio
RL	regressão linear
RQ	regressão quadrática
RC	regressão cúbica
T	taxa transpiratória
URX	ureídeos no exsudato da seiva do xilema

EXTRATO

LIMA, Juliana Domingues, M. S., Universidade Federal de Viçosa, abril de 1998.
Crescimento e características bioquímicas e fotossintéticas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob deficiência de nitrogênio e fósforo. Orientador: Paulo Roberto Mosquim. Conselheiros: Marco Aurélio Pedron e Silva e Paulo Cezar Rezende Fontes.

Os experimentos deste estudo foram conduzidos em casa de vegetação, com plantas de feijão cultivadas inicialmente em solução nutritiva completa até 10 dias após a emergência. Em seguida, forneceram-se soluções nutritivas contendo $7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N e $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de P, para os níveis adequados de N e P; e $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N e $0,005 \text{ mol m}^{-3}$ de P, nos tratamentos sob deficiência desses elementos. Aos 18 dias após a indução das deficiências, avaliaram-se o crescimento e as características bioquímicas e, aos 0, 6, 9, 12, 15 e 18 dias após a indução das deficiências, as características fotossintéticas. Verificaram-se reduções em número de folhas, área foliar, massa seca dos pecíolos, folíolos, caules e total da planta, taxa fotossintética líquida, taxa fotossintética líquida máxima, condutância estomática e taxa transpiratória das plantas sob deficiências de N, de P e de N e P. Sob deficiência de N, observaram-se aumento na fluorescência inicial e decréscimos na fluorescência máxima, na fluorescência variável, na razão entre as fluorescências variável e máxima e nos teores foliares de clorofilas, carotenóides e N total das plantas. Sob deficiência de P, verificaram-se diminuições no teor de

Pi do tecido foliar e na fluorescência variável das plantas. Deficiências de N e de N e P promoveram decréscimos mais efetivos na taxa fotossintética líquida do que a deficiência de P. Não houve efeito aditivo das deficiências de N e P sobre a taxa fotossintética. A deficiência de nitrogênio estimulou a fixação simbiótica do dinitrogênio, porém houve necessidade de nível adequado de P na solução nutritiva.

ABSTRACT

LIMA, Juliana Domingues, M. S., Universidade Federal de Viçosa, April, 1998.
Growth and biochemical and photosynthetic characteristics of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under nitrogen and phosphorus deficiency.
Adviser: Paulo Roberto Mosquim. Committee Members: Marco Aurélio Pedron e Silva and Paulo Cezar Rezende Fontes.

Experiments were conducted in greenhouse with common bean plants grown in full Hoagland's solution until 10 days after emergence, and then under N and/or P deficiency ($0,5 \text{ mol m}^{-3} \text{ N}$ and $0,005 \text{ mol m}^{-3} \text{ P}$ versus $7,5 \text{ mol m}^{-3} \text{ N}$ e $0,5 \text{ mol m}^{-3} \text{ P}$ in the controls) during 18 days. Photosynthetic parameters were evaluated throughout the deficiency induction period, and the growth and the biochemical attributes were measured at the end of deficiency period. Decline in leaf number, leaf area, dry matter of petiole, leaflet, stem, and whole plant, net CO_2 assimilation rate, photosynthetic O_2 evolution, stomatal conductance and transpiration rate in the plants under all deficiency treatments were observed. Under N deficiency the variable to maximum fluorescence ratio was decreased as a result of increased ground fluorescence and of a decreased quenching maximum fluorescence; decreases in content of chlorophylls, carotenoids and total N also occurred. Under P deficiency decreases in maximum fluorescence and in inorganic phosphorus content of plants were observed. The deficiencies of N and that of N plus P led to larger depressions in net CO_2 assimilation rate than depression due to P deficiency alone. Nitrogen starvation stimulated symbiotic dinitrogen fixation, provided P levels in the nutrient solution were adequate.

INTRODUÇÃO

O feijão é um dos alimentos básicos da população brasileira e a principal fonte protéica vegetal das camadas de menor poder aquisitivo (SOUZA et al., 1995). Apesar de, historicamente, apresentar baixa produtividade média (ROSOLEM e MARUBAYASHI, 1994), atualmente o Brasil destaca-se como o maior produtor mundial dessa leguminosa (AIDAR e FERREIRA, 1996). A baixa produtividade média tem sido relacionada, dentre outros fatores, à quantidade reduzida de fertilizantes aplicada ao solo.

Para o crescimento e o desenvolvimento ótimo das plantas, o teor de fósforo (P) deve variar de 0,3 a 0,5% do peso da matéria seca (BENTON JONES et al., 1991), dependendo da espécie, da cultivar, do órgão e da época de amostragem. Níveis subótimos de P podem causar reduções na taxa fotossintética da planta, por diminuírem a eficiência fotoquímica e a conseqüente liberação de oxigênio, como foi verificado em girassol (PLESNICAR et al., 1994). Podem, ainda, reduzir a atividade da ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (WOODROW e BERRY, 1988). Outras alterações são também comuns em plantas deficientes de P, incluindo-se a restrição da regeneração da ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP) no ciclo de Calvin (BROOKS, 1986) e reduções na área foliar (RAO e TERRY, 1989), na razão raiz/parte aérea (JACOB e LAWLOR, 1991), nos teores de proteínas solúveis totais e na produção de matéria seca (CAKMAK et al., 1994).

Sob deficiência de P, a fixação simbiótica do dinitrogênio (N₂) pode ser comprometida, conforme observado em soja (SA e ISRAEL, 1991, 1995). Para a nodulação e a fixação máxima do N₂, é necessário suprimento ótimo de P, que varia segundo a espécie e o genótipo da planta (LINS et al., 1985; PEREIRA, 1992). De modo geral, o incremento nos níveis de P na solução do solo, para plantas que dependem da fixação do N₂, tem levado a um aumento na concentração de nitrogênio (N) nos tecidos, bem como ao incremento de peso da matéria seca (ISRAEL, 1987; ISRAEL e RUFTY JR., 1988).

Tem-se observado correlação positiva entre o teor de N e a taxa fotossintética de diversas plantas (KU et al., 1979; LONGSTRETH e NOBEL, 1980; WONG et al., 1985; MAKINO et al., 1994). Sob deficiência de N, têm-se verificado reduções nos teores de clorofilas em plantas de arroz (MAKINO et al., 1994); alterações na cinética de emissão de fluorescência rápida e redução no rendimento quântico em plantas de cevada (HÁK et al., 1993); diminuição na evolução do oxigênio e na suspensão de células de *Chenopodium rubrum* (SCHÄFER e HEIM, 1992); e declínio nos teores de clorofilas e nas trocas gasosas em feijoeiro (PEÑUELAS et al., 1993).

Apesar de as relações entre a fotossíntese e o suprimento de N ou P serem bem documentadas, poucos estudos associaram os efeitos simultâneos da deficiência desses elementos sobre a fotossíntese do feijoeiro. Pretendeu-se, pois, avaliar os efeitos das deficiências isoladas ou simultâneas de N e P sobre as características de crescimento, bioquímicas e fotossintéticas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).

CAPÍTULO 1

CRESCIMENTO E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FOTOSSINTÉTICAS DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) SOB DEFICIÊNCIA ISOLADA OU SIMULTÂNEA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Efeito do nitrogênio

O N é componente fundamental de proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos e outras moléculas essenciais. Constitui cerca de 2 a 5% da matéria seca dos tecidos vegetativos da planta quando cultivada em condições ótimas (BENTON JONES et al., 1991). É encontrado no solo em quantidades inferiores àquelas necessárias ao crescimento e desenvolvimento da planta, sendo freqüentemente apontado como fator limitante da produtividade (HÁK e NÁTR, 1987).

Sob deficiência de N, é comum ocorrerem alterações na partição de assimilados entre a parte aérea e o sistema radicular da planta, causando decréscimo na taxa de crescimento da parte aérea em relação à taxa de crescimento do sistema radicular (WILSON, 1988; KHAMIS et al., 1990; PEÑUELAS et al., 1993). O transporte de N das raízes para os meristemas centrais da parte aérea

diminui, resultando em declínio da atividade meristemática e da diferenciação de novas folhas. O metabolismo de carboidratos e o crescimento de tecidos-drenos da parte aérea também diminuem, devido à maior translocação de fotoassimilados para o sistema radicular (CAMPBELL et al., 1983).

Alterações na biomassa de plantas de feijão e pimentão sob deficiência de N foram estudadas por PEÑUELAS et al. (1993). Segundo esses autores, houve decréscimo na massa foliar de 33% no pimentão e de 15% no feijoeiro. Neste, o efeito da deficiência foi menos drástico, e isso se deveu à contribuição da fixação biológica do N_2 sobre o ganho líquido de peso da matéria seca. Paralelamente à redução do peso da matéria seca das folhas das plantas com deficiência de N, ocorreram reduções na área foliar total da planta, como verificado em trigo de inverno (CAMPBELL et al., 1983), em pimentão (PEÑUELAS et al., 1993) e em espinafre (EVANS e TERASHIMA, 1987, 1988; TERASHIMA e EVANS, 1988).

Além do crescimento, alguns parâmetros bioquímicos da planta também podem ser alterados sob deficiência de N. Por exemplo, o teor de clorofila é reduzido (WONG et al., 1985; EVANS e TERASHIMA, 1987, 1988; KHAMIS et al., 1990; SCHÄFER e HEIM, 1992; HÁK et al., 1993; PEÑUELAS et al., 1993). O mesmo pode ocorrer com o teor de proteínas solúveis totais, dentre elas a Rubisco (WONG et al., 1985; KHAMIS et al., 1990; SCHÄFER e HEIM, 1992; MAKINO et al., 1994; RIVIERE-ROLLAND et al., 1996). Essas alterações resultam, em última instância, na redução da taxa fotossintética por unidade de área foliar (SAGE et al., 1987a) e da fotossíntese total da planta, concorrendo para a diminuição da produtividade desta (PEÑUELAS et al., 1993).

Durante a formação dos nódulos e o estabelecimento da fixação simbiótica do N_2 , as deficiências de NO_3^- e NH_4^+ nos solos podem ser apontadas como benéficas. Em feijoeiro, entretanto, é necessária a sincronização entre o período de diminuição do N nos cotilédones e o início da fixação, podendo resultar em sintomas de deficiência entre 15 e 20 dias após a emergência das plantas (HUNGRIA e NEVES, 1987; HUNGRIA et al., 1991). Isso decorre do fato de que o nitrato é um inibidor da nodulação (GIBSON e HAPER, 1985). Porém, apesar de a ausência de nitrato no solo ser benéfica para a fixação biológica, a sua ausência

pode contribuir para a redução da produtividade em determinados genótipos de feijoeiro (HUNGRIA et al., 1991).

1.2. Efeito do fósforo

O P é nutriente essencial para as plantas. Faz parte de diversos componentes das células vivas, como fosfolipídios, proteínas fosforiladas, nucleotídeos etc. Além de ser componente estrutural e funcional da célula, está envolvido no crescimento (DIETZ e FOYER, 1986; NAGANO e ASHIHARA, 1993; USUDA, 1995), no metabolismo intermediário e no metabolismo energético das células vivas (CLARKSON e HANSON, 1980; BIELISKE e FERGUSON, 1983; NAGANO e ASHIHARA, 1993).

A quantidade de P na planta é dependente da quantidade de fósforo inorgânico (Pi) contida na solução do solo. Em razão do baixo teor de Pi nessa solução, muitas plantas podem apresentar sintomas de deficiência de P (BIELISKI, 1973), que podem ser traduzidos em alterações diretas ou indiretas na fotossíntese, na respiração e no crescimento (USUDA e SHIMOGAWARA, 1991a, 1991b, 1992). Decréscimos na taxa de crescimento, via de regra, decorrem de reduções na expansão e no alongamento celular (RADIN e EIDENBOCK, 1984; RAO e TERRY, 1989), isso devido à diminuição na condutividade hidráulica da célula (RAO e TERRY, 1989). Ademais, baixa disponibilidade de Pi na solução do solo pode, também, limitar a síntese de ATP e a atividade da Rubisco, bem como influenciar o sistema transportador triose fosfato/Pi (translocador triose-P/Pi) localizado na membrana interna do cloroplasto (DIETZ e FOYER, 1986). Se a exportação de triose-P for diminuída pela deficiência de Pi, podem ocorrer alterações na partição de fotoassimilados, com aumento da síntese de amido cloroplastídico e diminuição na síntese de sacarose no citossol (FREDEEN et al., 1990). Como consequência final, observa-se, geralmente, redução na taxa fotossintética líquida da planta (DIETZ e FOYER, 1986; CONROY et al., 1990; JACOB e LAWLOR, 1991, 1993; PLESNICAR et al., 1994; SAWADA et al., 1995).

A deficiência de P pode também afetar indiretamente a fotossíntese, pelas alterações provocadas na área foliar e no teor de clorofilas e proteínas da planta.

Sob deficiência de P, é comum observar-se redução na área foliar (e.g., RAO e TERRY, 1989; CONROY et al., 1990; JACOB e LAWLOR, 1991, 1993; PLESNICAR et al., 1994; USUDA, 1995) e no teor de proteínas solúveis totais (e.g., JACOB e LAWLOR, 1991). No entanto, as respostas dos teores de clorofila à deficiência de P são contraditórias; eles podem ser incrementados, como verificado por JACOB e LAWLOR (1991) em plantas de trigo e por RAO e TERRY (1989) em beterraba-açucareira, ou reduzidos, conforme observado em girassol por JACOB e LAWLOR (1991) e PLESNICAR et al. (1994) e em milho por JACOB e LAWLOR (1991). Possivelmente, a área foliar da planta seja mais sensível à deficiência de P do que os teores de clorofilas e de proteínas.

Assim como de N, a deficiência de P exerce efeito pronunciado na partição de fotoassimilados (FREDEEN et al., 1989; CAKMAK et al., 1994). Raízes de plantas de soja sob deficiência de P apresentaram taxa de crescimento constante, apesar de as concentrações de amido e açúcares terem sido inferiores ou semelhantes às das plantas-controle (QIU e ISRAEL, 1992). Maior exportação de carboidratos para as raízes de plantas de milho deficientes de P foi observada por ALVES et al. (1995), indicando que as raízes podem tornar-se mais competitivas por fotoassimilados do que a parte aérea. Assim, o aumento da relação entre a raiz e a parte aérea, em plantas deficientes de P, pode ser devido à utilização mais eficiente dos carboidratos pelas raízes (QIU e ISRAEL, 1992) ou ao aumento da exportação de fotoassimilados para elas.

1.3. Efeito simultâneo do nitrogênio e fósforo

Como se pode observar, N e P estão intimamente envolvidos no crescimento e metabolismo da planta e, dependendo do processo, podem interagir em numerosos pontos. A assimilação do N, por exemplo, é alterada pela deficiência de P. No mínimo três tipos de efeitos são bem identificados em plantas

sob esse tipo de estresse: primeiro, redução da absorção de nitrato (RUFTY JR. et al., 1989, 1991); segundo, redução na translocação de nitrato da raiz para a parte aérea (RUFTY JR. et al., 1989); e terceiro, aumento no teor de aminoácidos livres (RUFTY JR. et al., 1993). Isso indica que a assimilação do N pela planta sob deficiência de P seja, provavelmente, regulada por mecanismo sinalizado pela disponibilidade de ATP (RUFTY JR. et al., 1993).

Outro processo que pode ser citado como exemplo de interação entre N e P é a fixação biológica do N_2 . A fixação do N_2 pela enzima nitrogenase requer suprimento de energia (ATP) e de agentes redutores, tal como NAD(P)H (DILWORTH, 1974), sendo necessários, no mínimo, 16 ATP por mol de N_2 fixado (SALISBURY e ROSS, 1992). Desse modo, a deficiência de fosfato pode diminuir a funcionalidade dos nódulos e o metabolismo da planta hospedeira (SA e ISRAEL, 1991). A fotossíntese e a fixação biológica de N_2 são processos interdependentes (DEJONG e PHILLIPS, 1981). A sacarose sintetizada nas folhas é translocada até os nódulos via floema, provendo energia e esqueletos carbônicos necessários à fixação de N_2 , à assimilação do amônio e à síntese de purinas (PATE, 1962).

Pode-se afirmar que, sob deficiência de P, ocorre decréscimo na taxa de fotossíntese líquida por unidade de área foliar (FREDEEN et al., 1989; QIU e ISRAEL, 1992), na área foliar total da planta (RAO e TERRY, 1989) e no peso da matéria seca dos nódulos em relação ao peso da matéria seca total da planta (ISRAEL, 1987). Coletivamente, essas informações suportam a hipótese de que a deficiência de P pode reduzir o suprimento de fotoassimilados para o nódulo, resultando em impacto negativo na fixação de N_2 , no suprimento de esqueletos carbônicos e na energia necessária ao processo de assimilação dos íons amônio (SA e ISRAEL, 1995).

Assim, objetivou-se determinar os efeitos das deficiências isoladas ou simultâneas de N e P sobre o crescimento, as taxas fotossintéticas, os teores foliares de pigmentos, de P_i e de N total e as concentrações de compostos nitrogenados e de P_i no exsudato do xilema.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período compreendido entre novembro de 1996 e janeiro de 1997.

2.1. Material vegetal e condições de cultivo

Sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Negrito) foram inicialmente tratadas com solução de etanol 70%, por 1 minuto e, subsequentemente, com solução 10^{-3} kg L⁻¹ de HgCl₂ por 3 minutos. Em seguida, foram lavadas 5 vezes com água destilada estéril e, finalmente, tratadas em suspensão de 10^{-3} kg L⁻¹ do fungicida Benlate.

A semeadura foi realizada em areia grossa previamente lavada e autoclavada. Aos 4 dias após a emergência (DAE), as plântulas foram selecionadas e transplantadas para caixas de isopor forradas com plástico transparente contendo 4,5 L de solução nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950). Essa solução foi preparada com a metade da força iônica original e mantida sob arejamento contínuo. As deficiências de N, P e de N e P foram induzidas aos 10 DAE, conforme as soluções apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Composição das soluções nutritivas, adaptadas de HOAGLAND e ARNON (1950)

Fonte	Solução- Estoque (mol m ⁻³)	Volume da Solução-Estoque por L da Solução Nutritiva			
		Completa	Def. N	Def. P	Def N e P
Ca(NO ₃) ₂	10 ³	4,0	-	4,0	-
NH ₄ NO ₃	10 ³	1,0	0,5	1,0	0,5
KNO ₃	10 ³	5,0	-	5,0	-
KH ₂ PO ₄	10 ³	1,0	1,0	0,1	0,1
KCl	10 ³	-	5,0	1,0	6,0
MgSO ₄	10 ³	2,0	2,0	2,0	2,0
CaCl ₂	0,5 x 10 ³	-	4,0	-	4,0
Fe-EDTA	1,9	4,0	4,0	4,0	4,0
Micron.*	-	4,0	4,0	4,0	4,0

Composição da solução-estoque de micronutrientes: H₃BO₃ (4,62 x 10⁻² mol m⁻³) + ZnSO₄ (7,65 x 10⁻⁴ mol m⁻³) + CuSO₄ (3,20 x 10⁻⁴ mol m⁻³) + MnCl₂ (9,15 x 10⁻³ mol m⁻³) e H₂MoO₄ (1,85 x 10⁻⁴ mol m⁻³).

As concentrações finais de N e P nas soluções nutritivas foram de 7,5 mol m⁻³ de N e 0,5 mol m⁻³ de P, para os níveis adequados de N e P; e 0,5 mol m⁻³ de N e 0,005 mol m⁻³ de P, respectivamente, para deficiências de N e P, isoladas ou simultâneas. O pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente para 5,5, utilizando-se soluções de NaOH 0,1 mol m⁻³ ou HCl 0,1 mol m⁻³. As soluções nutritivas foram trocadas a cada cinco dias, sendo-lhes adicionados 2 mL de Fe-EDTA a cada dois dias.

O controle fitossanitário preventivo de doenças radiculares foi realizado com a adição de uma suspensão do fungicida Ridomil + Mancozeb 10⁻⁴ kg m⁻³ à solução nutritiva.

2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (dois níveis de N e dois níveis de P), com cinco repetições, sendo cada unidade experimental constituída de uma planta por vaso.

2.3. Avaliações

As avaliações foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFV ao final do experimento, quando as plantas apresentavam 28 DAE ou 18 dias após a indução de deficiência, conforme descrito nos tópicos subseqüentes.

2.3.1. Taxa fotossintética líquida

A taxa fotossintética líquida (4) foi determinada no folíolo central do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta. Para tanto, utilizou-se o analisador de gases a infravermelho, portátil, em sistema aberto (LCA2, ADC, Hoddesdon, Reino Unido). As medições foram feitas a partir das 9 h, à temperatura ambiente da casa de vegetação (28-34⁰C), sob luz artificial saturante de 800-850 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, determinada a partir de uma curva de irradiância fixada com valores de fotossíntese líquida, medida em diferentes irradiâncias.

2.3.2. Taxa fotossintética líquida máxima

A taxa fotossintética líquida máxima (A_{max}) foi determinada em discos foliares de 10^{-3} m^2 , retirados do mesmo folíolo utilizado para determinação da fotossíntese líquida. Para tanto, utilizou-se o eletrodo de oxigênio de fase gasosa (LD2, Hansatech, Norkfolk, Reino Unido), calibrado pela introdução de volume conhecido de O_2 a 35 ⁰C e sob irradiância saturante (fornecida pela fonte LS2-Hanstech, provida de lâmpada de halogênio de 100 w). A concentração de CO_2 na

câmara foi gerada por tampão de carbonato/bicarbonato (1 kmol m^{-3}), conforme recomendação de WALKER (1987).

2.3.3. Características do crescimento

Inicialmente, registrou-se o número de folhas (NF). A seguir, as plantas foram coletadas e seccionadas, separando-se folíolos, pecíolos, caule e raízes.

A área foliar total (AF) foi determinada por medidor de área foliar (Delta-T Devices Ltd, Burwell, Cambridge, Inglaterra). A área foliar específica total (AF_{Et}) foi estimada pela relação entre a área foliar e a massa seca dos folíolos. A área foliar específica determinada em disco (AF_{Ed}) foi estimada em discos foliares de 10^{-3} m^2 , secos em estufa, retirados do folíolo central do segundo trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta, evitando-se a nervura principal.

A massa seca de folíolos (MSF), pecíolos (MSP), caules (MSC), raiz (MSR), total da planta (MST) e discos foliares foi determinada após secagem em estufa com ventilação forçada a 70°C até peso constante.

2.3.4. Características bioquímicas

2.3.4.1. Teor de pigmentos foliares

Os teores de clorofilas e carotenóides foram determinados nos discos foliares previamente utilizados para determinação de A_{max} , utilizando-se os coeficientes de absorvância molar, de acordo com equações propostas por HENDRY e PRICE (1993).

2.3.4.2. Teor de fósforo inorgânico foliar

Cerca de $5 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ do tecido fresco do primeiro e do último trifólio completamente expandidos, a partir do ápice da planta, foram conservados em frascos de vidro contendo 2 mL de ácido perclórico ($0,2 \times 10^3 \text{ mol m}^{-3}$) e

armazenados à temperatura de -20°C . A extração do Pi foi realizada conforme recomendação de SMILLE e KROTKOV (1960), modificada por HOGUE et al. (1970). Amostras previamente guardadas foram descongeladas e transferidas para graal. Foi feita a lavagem do recipiente que continha a amostra com 1 mL de ácido perclórico, na mesma concentração utilizada na conservação. As amostras foram maceradas após a adição de areia fina lavada. O macerado obtido foi transferido para tubos de centrifuga, usando-se mais 4 mL de ácido perclórico. Após a centrifugação a 3.000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi filtrado em papel-filtro e transferido para um balão volumétrico de 25 mL. O resíduo foi ressuscitado e centrifugado, utilizando-se 5 mL de ácido perclórico para as transferências e lavagens. Essa operação foi repetida por mais uma vez e o volume do balão, completado com ácido perclórico para 25 mL. Esse extrato foi armazenado em congelador (-20°C) para posterior determinação de Pi. A concentração de P no extrato foi determinada por meio da redução de fosfomolibdato com ácido ascórbico a partir da curva-padrão, utilizando-se KH_2PO_4 , numa variação de 0 a 2,5 μg de P por mL, conforme recomendação de BRAGA e DEFELIPO (1974).

2.3.4.3. Teor de nitrogênio total foliar

A determinação do teor de N total foi realizada conforme sugerido por LANG (1958). Cerca de $2,5 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ do tecido vegetal do primeiro e do último trifólio completamente expandidos, a partir do ápice da planta, foram secos em estufa com ventilação forçada a 70°C , moídos e digeridos com H_2SO_4 e, subseqüentemente, oxidados com água oxigenada. O volume do extrato obtido foi completado para 50 mL com água destilada e deionizada. A uma amostra desse volume, adicionou-se o reativo de Nessler, e a absorvância foi lida a 420 nm. A concentração de N foi quantificada a partir da curva-padrão estabelecida com sulfato de amônio, numa variação de 10 a 50 μg de N por mL.

2.3.4.4. Concentrações de nitrogênio (aminoácidos, ureídeos e nitrato) e de fósforo inorgânico no exsudato do xilema

A coleta de exsudato do xilema para determinação da concentração dos compostos nitrogenados e de Pi foi realizada após a excisão das plantas imediatamente acima do nó cotiledonar. O período mais adequado para a coleta foi determinado em testes preliminares e estabelecido entre 12 e 13 horas. A coleta foi realizada com o auxílio de uma micropipeta, descartando-se o volume coletado no primeiro minuto, a fim de evitar-se possível contaminação da seiva com substâncias contidas no suco das células rompidas durante a excisão. O volume coletado foi transferido para frascos de vidro previamente mantidos a 0°C e, depois, armazenados a -20°C. No momento das análises, o exsudato foi descongelado e diluído com água destilada deionizada.

A concentração de aminoácidos totais (N-aminoacídico) foi determinada pela reação colorimétrica com ninidrina, a partir da curva-padrão obtida pela mistura eqüimolecular de arginina, glicina, glutamato e fenilalanina, numa variação de 0 a 400 µmoles por mL, conforme sugerido por YEMM e COCKING (1955). A concentração de ureídeos, ácido alantóico e alantoína foi determinada a partir de curva-padrão de alantoína, numa variação de 0 a 37,5 µmoles por mL, conforme recomendaram VOGELS e VAN DER DRIFT (1970). A concentração de nitrato foi determinada, a partir de curva-padrão estabelecida com nitrato de potássio, numa variação de 0 a 60 µmoles por mL, conforme sugerido por CATALDO et al. (1975). A concentração de Pi foi determinada pela redução de fosfomolibdato com ácido ascórbico, via curva-padrão de KH₂PO₄, numa variação de 0 a 2,5 µg de P por mL, segundo sugestões de BRAGA e DEFELIPO (1974).

2.4. Análises estatísticas

Para a análise de variância, utilizaram-se o Sistema para Análise Estatísticas e Genéticas (SAEG) criado pela UFV e o Sistema Estatístico (ESTAT)

desenvolvido pela UNESP. O teste F a 1 e 5% de significância foi empregado na análise de variância, sendo considerado conclusivo nos contrastes entre duas médias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre o crescimento

Como se pode observar no Quadro 2, em níveis adequados de N e P as plantas apresentaram maior NF e AF do que as plantas cultivadas sob deficiências de N ou P. O NF e AF das plantas sob deficiência de N e P não diferiram das daquelas cultivadas com deficiência de N ou P.

A área foliar específica total não foi afetada pelas deficiências de N e, ou, P (Quadro1). No entanto, houve aumento em AFEd sob deficiência de N e, redução sob deficiência de P, em comparação com os níveis adequados de N e P (Quadro 2). A redução em AFEd sob deficiência de P foi atribuída ao aumento do teor de compostos orgânicos por RADIN e EIDENBOCK (1986) e CAKMAK et al. (1994), preferencialmente na forma de amido, que reflete redução na atividade dos drenos. Folhas menores, verde-escuras e mais espessas foram observadas nas plantas deficientes de P no experimento deste estudo e também em plantas de beterraba-açucareira sob deficiência desse mesmo elemento (RAO e TERRY, 1989). Provavelmente, a redução na AFEd, detectada sob deficiência de P, estivesse relacionada com o possível aumento de espessura da folha ou com o aumento do número de células por unidade de área foliar, à semelhança do que observaram JACOB e LAWLOR (1991) em folhas de girassol.

Quadro 2 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre número de folhas por planta (NF), área foliar por planta (AF), área foliar específica total (AFEt) e área foliar específica determinada em disco foliar (AFEd) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características			
P	N	NF	AF	AFEt	AFEd
(mol m ⁻³)		-	(m ²)	(m ² kg ⁻¹)	(m ² kg ⁻¹)
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	25,4 A a	0,37 A a	44,09	42,99 B a
0,5 (adeq)	0,5 (def)	9,4 B a	0,09 B a	51,73	45,45 A a
0,005 (def)	7,5 (adeq)	9,8 A b	0,10 A b	50,35	37,44 B b
0,005 (def)	0,5 (def)	8,4 A a	0,09 A a	50,96	44,90 A a
•	7,5 (adeq)	17,6	0,23	47,91	44,21
•	0,5 (def)	8,9	0,09	50,66	41,17
0,5 (adeq)	•	17,4	0,23	47,22	40,22
0,005 (def)	•	9,1	0,09	51,34	45,17

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

No que diz respeito a MSF, MSP, MSC e MST, os resultados do Quadro 3 indicam redução similar dessas características, sob deficiência de N ou P, em comparação com os níveis adequados de N e P. Apesar dessas variações, a MSR não foi afetada por nenhuma das deficiências aplicadas (Quadro 3). Observa-se ainda, no Quadro 3, que sob deficiências de N ou P ocorreram reduções similares na relação entre a massa seca da parte aérea e a da raiz (PaR) das plantas, em comparação com aquelas cultivadas com níveis adequados de N e P, não havendo, entretanto, diferenças nessa relação entre a deficiência de N ou P e a deficiência de N e P.

Quadro 3 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre massa seca dos folíolos (MSF), dos pecíolos (MSP), dos caules (MSC), da raiz (MSR), do total (MST) e da relação entre a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz (PaR) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características					
P	N	MSF	MSP	MSC	MSR	MST	PaR
(mol m ⁻³)		(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	-
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	8,40 A a	1,80 A a	4,00 A a	2,90	17,30 A a	4,63 A a
0,5 (adeq)	0,5 (def)	1,70 B a	0,50 B a	1,70 B a	2,70	6,50 B a	1,56 B a
0,005 (def)	7,5 (adeq)	2,00 A b	0,60 A b	2,00 A b	3,30	8,00 A b	1,39 A b
0,005 (def)	0,5 (def)	1,70 A a	0,40 A a	1,90 A a	3,10	6,80 A a	1,39 A a
•	7,5 (adeq)	5,20	1,20	3,00	3,10	12,70	3,01
•	0,5 (def)	1,70	0,40	1,80	2,60	6,70	1,48
0,5 (adeq)	•	5,10	1,10	2,90	3,40	11,90	3,09
0,005 (def)	•	1,90	0,50	1,90	2,90	7,40	1,39

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Sob deficiência de N, é comum as plantas apresentarem aumento da alocação de assimilados para as raízes (PEÑUELAS et al., 1993), o que resulta em redução na relação parte área/raiz. No presente estudo, em particular, as plantas sob deficiência nutricional não apresentaram aumento de MSR. Portanto, as diferenças encontradas em PaR (Quadro 3) podem ser atribuídas somente à redução na massa seca da parte aérea da planta, como consequência da queda do seu crescimento. A redução na massa seca da parte aérea sob deficiência de P foi também observada em plantas de feijão (CAKMAK et al., 1994) e de soja (MARTINEZ et al., 1993a). Em alguns casos, verificou-se, concomitantemente, aumento de MSR sob

deficiência de P (ISRAEL e RUFTY JR., 1988; RUFTY JR. et al., 1990), enquanto noutros a MSR permaneceu inalterada (CAKMAK et al., 1994; GUIDI et al., 1994).

3.2. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre os teores foliares de pigmentos, fósforo inorgânico e nitrogênio total

Como se pode observar no Quadro 4, a deficiência de N causou decréscimos nos teores de Cl *a* e Cl (*a+b*), em comparação com os teores foliares das plantas cultivadas em níveis adequados de N e P. Os teores de Cl *a* e Cl (*a+b*) sob deficiência de N e P se mostraram reduzidos quando comparados com os apresentados sob deficiência de P. Reduções nos teores de Cl (*a+b*) sob deficiência de N são comumente relatadas (WONG et al., 1985; PEÑUELAS, 1993; LOPEZ-CANTARERO e ROMERO, 1994; HÁK et al., 1993; SCHÄFER e HEIM, 1992; ROBINSON, 1996). Apesar de as plantas sob deficiência de P não terem apresentado redução no teor de Cl (*a+b*), plantas de girassol e de milho exibiram decréscimos nos teores desses pigmentos (JACOB e LAWLOR, 1991; USUDA, 1995) ou aumentos, conforme observado em plantas de trigo e de beterraba-açucareira (RAO e TERRY, 1989).

O teor de clorofila *b* e a razão clorofila *a/b* não foram alterados pelas deficiências de N e, ou, P. Entretanto, em alguns trabalhos, têm-se relatado aumento na razão Cl *a/b*, tanto sob deficiência de N (LICHTENTHALER e RINDERLE, 1988) quanto de P (CONROY et al., 1986).

O teor de carotenóides por unidade de área foliar no primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta, foi também reduzido sob nível deficiente de N quando comparado com o teor desses compostos sob nível adequado de N (Quadro 4). Essa redução foi independente do nível de P da solução de cultivo, indicando que a deficiência de N pode inibir a biossíntese de carotenóides. Resultados semelhantes foram observados por HÁK et al. (1993).

Quadro 4 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre o teor foliar de clorofila a (Cl *a*), clorofila (Cl *b*) e clorofilas totais [Cl (*a+b*)], sobre a razão clorofila *a/b* [Cl (*a/b*)] e sobre o teor foliar de carotenóides (Car) no primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características				
P	N	Cl <i>a</i>	Cl <i>b</i>	Cl (<i>a+b</i>)	Cl (<i>a/b</i>)	Car
(mol m ⁻³)		(mmol m ⁻²)	(mmol m ⁻²)	(mmol m ⁻²)		(mmol m ⁻²)
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	0,29 A a	0,11	0,40 A a	2,63	0,10
0,5 (adeq)	0,5 (def)	0,15 B b	0,09	0,21 B b	2,36	0,02
0,005 (def)	7,5 (adeq)	0,29 A a	0,09	0,40 A a	2,58	0,12
0,005 (def)	0,5 (def)	0,21 B a	0,11	0,32 B a	2,42	0,05
•	7,5 (adeq)	0,29	0,11	0,40	2,67	0,11 a
•	0,5 (def)	0,18	0,06	0,26	2,48	0,03 b
0,5 (adeq)	•	0,22	0,11	0,31	2,60	0,01
0,005 (def)	•	0,25	0,11	0,36	2,24	0,08

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os teores médios de Pi no primeiro (PiTN) e último (PiTV) trifólios apresentaram comportamento semelhante, ou seja, sob deficiência de N houve aumento nos teores de Pi e redução nos teores desse elemento sob deficiência de P, em relação aos níveis adequados de N e P. Sob deficiências de N e P também ocorreram reduções nos teores de PiTN e PiTV, em comparação com os teores das plantas cultivadas sob deficiência de N. Entretanto, tais reduções foram significativas somente para o teor de PiTN (Quadro 5). Segundo BIELISKI (1973) e BIELISKI e FERGUNSON (1983), Pi é a fração de P na planta que mais se altera em quantidade e proporção, em razão do suprimento externo de P à planta.

Portanto, em condição de deficiência de P, ocorre diminuição no teor de Pi no tecido foliar (JACOB e LAWLOR, 1991; NAGANO e ASHIHARA, 1993; PLESNICAR et al., 1994; USUDA, 1995).

Plantas sob deficiência de N apresentaram decréscimo no teor de NTN e, sob deficiência de P, acréscimo, em comparação com o teor obtido nos níveis adequados de N e P (Quadro 5). O aumento do teor de NTN nas plantas sob deficiência de P pode, provavelmente, ser explicado pelo efeito da concentração do nutriente no tecido foliar, como consequência da redução da MSF e AF. A deficiência de N reduziu o teor de NTV das plantas, independentemente do nível de P da solução nutritiva (Quadro 5). Redução no teor de N total foliar nas plantas deficientes de N reflete, provavelmente, redução no teor de proteínas, à semelhança do observado por SAGE et al. (1987a), TERASHIMA e EVANS (1988), SCHÄFER e HEIM (1992) e PAUL e DRISCOLL (1997).

Aos 6 dias após a indução da deficiência nutricional, as plantas sob deficiência de N e, ou, P já apresentavam sintoma de clorose no trifólio mais velho. No final do experimento, 18 dias após a indução da deficiência ou 28 DAE, a clorose era generalizada, havendo, ainda, queda dos trifólios mais velhos, o que indica sintomas de senescência precoce, mais intensos nas plantas sob deficiências de N e de N e P. O teor de Pi no primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice, foi sempre superior ao do último trifólio (Quadro 5). Nos níveis adequados de N e P e de deficiências de N, de P e de N e P, a redução do teor de Pi no último trifólio completamente expandido a partir do ápice, em relação ao primeiro, foi cerca de 19, 29, 39 e 50%, respectivamente. Essa redução pode ter sido devida à translocação de Pi das partes velhas para as mais novas da planta e intensificada pela deficiência de P, conforme verificado por MARTINEZ et al. (1993b) em plantas de soja. Comparando também os teores de NTN e NTV, verificou-se que este apresentou redução no teor de N em relação ao primeiro, nos níveis adequados de N e P e de deficiências de N e, ou, P (Quadro 5). Esse decréscimo foi intensificado pela deficiência de N e de N e P, podendo ter sido também ocasionado pelo sombreamento das folhas mais velhas e pela retranslocação do N das partes mais velhas para as mais novas da planta, conforme verificado por HIROSE e WERGER (1987). Tudo indica que a longevidade da folha

esteja correlacionada com o seu teor de N (LYNCH e RODRIGUEZ, 1994). Segundo THOMAS e STODDAT (1980), o decréscimo nos teores de N e proteínas totais ocorre naturalmente com a maturação das folhas e é acelerado com a restrição do suprimento de N.

Quadro 5 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre o teor foliar de N total (NTN) e de Pi (PiTN) no primeiro e último (NTV) (PiTV) trifólios completamente expandidos, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características			
P	N	PiTN	PiTV	NTN	NTV
(mol m ⁻³)		(mmol m ⁻²)	(mmol m ⁻²)	(mmol m ⁻²)	(mmol m ⁻²)
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	0,72 A a	0,58 B a	12,32 A a	6,65
0,5 (adeq)	0,5 (def)	1,16 B a	0,83 A a	7,20 B a	1,89
0,005 (def)	7,5 (adeq)	0,14 A b	0,08 A b	15,84 A b	6,46
0,005 (def)	0,5 (def)	0,14 A b	0,01 A b	6,26 B a	1,59
•	7,5 (adeq)	0,42	0,33	14,08	6,56 a
•	0,5 (def)	0,65	0,45	6,73	1,74 b
0,5 (adeq)	•	0,94	0,70	9,76	4,27
0,005 (def)	•	0,14	0,01	11,05	4,03

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

3.3. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre os componentes da seiva do xilema

Observa-se, no Quadro 6, que o nível deficiente de P causou redução na concentração de aminoácidos totais na seiva do xilema das plantas, em comparação com o nível adequado de P. Esse decréscimo foi independente do nível de N, podendo ter sido causado pela diminuição da disponibilidade de energia para a redução do nitrato ou diminuição da disponibilidade de esqueletos carbônicos, necessários para a posterior assimilação dos íons amônio. Plantas de *Nicotiana tabacum* L., cultivadas com restrição de P na solução nutritiva, apresentaram redução no teor de aminoácidos no sistema radicular (RUFTY JR. et al., 1990).

No feijoeiro, as principais formas de translocação de compostos oriundos da fixação biológica do N_2 são, segundo PEOPLES et al. (1989), os ureídeos (ácido alantóico e alantoína). Portanto, as concentrações desses compostos na seiva do xilema dão idéia do processo de fixação simbiótica. Observa-se ainda, no Quadro 6, que a deficiência de N estimulou a fixação simbiótica do N_2 , estimada pela concentração de ureídeos, em comparação com os níveis adequados de N e P. Na deficiência de N, a concentração deste na solução nutritiva foi cerca de $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ ($N\text{-NO}_3^-$). Uma vez que o $N\text{-NO}_3^-$ é tido como inibidor da nodulação (CHO e HARPER, 1991a, 1991b), a baixa concentração desse nutriente pode ter favorecido a nodulação e a fixação simbiótica do N_2 . No entanto, sob deficiências de N e P, apesar do baixo nível de NO_3^- , o teor de P na planta estaria restringindo a fixação simbiótica do N_2 , à semelhança do verificado por ISRAEL et al. (1987) e YAHIYA et al. (1995), considerando-se que para a maximização da fixação simbiótica são necessários restrição no fornecimento de N e nível adequado de P na solução nutritiva.

Quadro 6 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre as concentrações de aminoácidos totais (AAX), de ureídeos (URX), de nitrato (NIX) e de Pi (PiX) do xilema do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características			
P	N	AAX	URX	NIX	PiX
(mol m ⁻³)		(mmol m ⁻³ h ⁻¹)	(mmol m ⁻³ h ⁻¹)	(mmol m ⁻³ h ⁻¹)	(mmol m ⁻³ h ⁻¹)
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	33,07	9,04 B a	14,74 A a	31,35 A a
0,5 (adeq)	0,5 (def)	32,99	16,17 A a	0,08 B a	7,01 B a
0,005 (def)	7,5 (adeq)	16,64	9,21 A a	6,87 A b	1,15 A b
0,005 (def)	0,5 (def)	12,25	6,28 B b	0,03 B a	1,10 B b
•	7,5 (adeq)	24,86	9,13	10,81	16,25
•	0,5 (def)	22,62	11,22	0,06	4,06
0,5 (adeq)	•	33,03 a	12,61	7,41	19,18
0,005 (def)	•	14,44 b	7,75	3,45	1,12

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

As maiores concentrações de nitrato na seiva do xilema foram obtidas quando os níveis de N e P foram adequados, seguidas pelas deficiências de P, de N e de N e P (Quadro 6). A diminuição da concentração de NIX nas plantas sob deficiências de N e de N e P foi devida ao fornecimento de baixo nível de NO₃⁻ na solução nutritiva. Decréscimos na concentração de NIX em plantas sob deficiência de P, a exemplo do que foi observado em soja por RUFTY JR. et al. (1993), parecem ser decorrentes da redução na absorção de NO₃⁻ ou de inibição de sua translocação da raiz para a parte aérea. Tem-se proposto que os teores de carboidratos na seiva do floema podem regular a absorção do NO₃⁻. Assim, é possível que a redução na absorção desse elemento sob deficiência de P seja devida, também, à redução na produção de fotoassimilados pela parte aérea da

planta. Desde que ocorra decréscimo na translocação de NO_3^- para a parte aérea, poderia ocorrer limitação da síntese de proteínas (RUFTY JR. et al., 1990). A deficiência de P imposta às plantas não resultou em decréscimo em NTN (Quadro 5). Acredita-se, então, que não tenha ocorrido limitação de N nessa folha, devido à retranslocação das partes mais velhas para as mais novas, de modo a garantir a síntese protéica.

Apesar de a concentração de N na forma de ureídeos (Quadro 6) na seiva do xilema ser alta, o teor de NTN de plantas cultivadas sob deficiência de N foi baixo quando comparado com o teor de plantas cultivadas sob níveis adequados de N e P (Quadro 5). Isso indica que o N, na forma de ureídeos e oriundo da fixação simbiótica do N_2 , não foi alocado para o tecido foliar. Tem sido demonstrado que caules e pecíolos de leguminosas acumulam alta concentração de N na forma de ureídeos durante os estádios iniciais de formação das sementes (STREETER, 1979; WAREMBOURG e FERNANDES, 1985). Posteriormente, ocorre exportação desses compostos para as sementes em desenvolvimento (WAREMBOURG e FERNANDES, 1985). De fato, as plantas sob deficiência de N se encontravam em pleno florescimento e início de formação das vagens. Além disso, é importante ressaltar que a fixação do N_2 aumenta exponencialmente no estágio R-2 (da formação da primeira flor até o pleno florescimento da planta) e depende do nível de nitrato no meio externo (NELSON et al., 1984). Portanto, a alta concentração de URX das plantas sob deficiência de N pode ser justificada pela fixação simbiótica e pelo estágio de desenvolvimento em que elas se encontravam.

Conforme se pode observar no Quadro 6, plantas supridas com níveis adequados de N e P apresentaram maior concentração de PiX, seguidas pelas plantas sob deficiências de N, de P e de N e P. O decréscimo na concentração em PiX, sob deficiência de N, pode ser devido à redução na área foliar da planta, que resultaria em menor requerimento de P, elevação do teor de Pi no tecido foliar, retranslocação intensa de P das folhas mais velhas para as mais novas e senescência precoce causada pela deficiência de N.

3.4. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre a taxa fotossintética líquida e a taxa fotossintética líquida máxima

Plantas supridas com níveis adequados de N e P apresentaram maiores valores de A , quando comparadas com aquelas sob deficiências de N ou P. Além disso, não houve diferenças em A entre plantas sob deficiências de N, de P e de N e P (Quadro 7). Redução em A sob deficiência de N tem sido freqüentemente observada (LONGSTRETH e NOBEL, 1980; HIROSE e WERGER, 1987; TAN e HOGAN, 1995; PAUL e DRISCOLL, 1997), bem como sob deficiência de P (LONGSTRETH e NOBEL, 1980; CONROY et al., 1986; DIETZ e FOYER, 1986; RAO et al., 1986; RAO e TERRY, 1989; CONROY et al., 1990; PLESNICAR et al., 1994; HAUSCHILD et al., 1986).

Sob deficiências de N ou P também ocorreram decréscimos em A_{max} das plantas, em relação aos níveis adequados de N e P. Não houve diferenças entre A_{max} das plantas sob deficiências de N e, ou, P (Quadro 7). Redução em A_{max} das plantas também foi observada sob deficiência de N por SCHÄFER e HEIM (1992) e deficiência de P por JACOB e LAWLOR (1991) e PLESNICAR et al. (1994).

A taxa fotossintética líquida máxima foi estimada sob concentração de CO_2 saturante e, conseqüentemente, sem efeito de limitação estomática, o que poderia impedir a maximização à fotossíntese. A razão A_{max}/A dá uma idéia da ocorrência desse tipo de limitação da fotossíntese (Quadro 7). Uma vez que não houve efeito das deficiências sobre essa razão, pode-se relatar que a fotossíntese foi reduzida, fundamentalmente, por limitações não-estomáticas.

Os decréscimos em A e A_{max} sob a deficiência de N poderiam ter sido ocasionados, em parte, pelas reduções nos teores foliares de N total e clorofilas (Quadros 4 e 5). É possível que as plantas nessa condição tenham apresentado redução na síntese de proteínas como a Rubisco ou de outras proteínas relacionadas com o ciclo de Calvin, à semelhança do que foi observado por LONGSTRETH e NOBEL (1980) e MAKINO et al. (1994), assim como diminuição na eficiência da absorção de energia luminosa. Sob deficiência de P, os decréscimos em A e A_{max} podem ter sido causados, dentre outros fatores, pela

redução no teor foliar de Pi (Quadro 5). Sob deficiência de N e P, as reduções nas taxas fotossintéticas poderiam ser relacionadas, em parte, com os decréscimos nos teores foliares de clorofilas e N total, assim como pela redução no teor foliar de Pi. Apesar disso, o efeito da deficiência de N e P sobre A e A_{\max} foi similar ao das deficiências de N ou P.

Quadro 7 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre a taxa fotossintética líquida (A), a taxa fotossintética líquida máxima (A_{\max}) e a razão A_{\max}/A do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 18 dias após a indução de deficiência nutricional

Nível de		Características		
P	N	A	A_{\max}	A_{\max}/A
mol m ⁻³		($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	($\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	-
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	15,24 A a	33,02 A a	2,18
0,5 (adeq)	0,5 (def)	6,68 B a	13,71 B a	2,41
0,005 (def)	7,5 (adeq)	8,03 A b	13,55 A b	1,69
0,005 (def)	0,5 (def)	6,35 A a	13,72 A a	2,19
•	7,5 (adeq)	11,63	23,29	1,93
•	0,5 (def)	6,51	13,71	2,30
0,5 (adeq)	•	10,96	23,37	2,29
0,005 (def)	•	7,19	13,63	1,94

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Nas plantas sob deficiências de N, de P e de N e P, as reduções em AF (Quadro 2) foram, em média, de 76%; em A (Quadro 7), de 54%; e em A_{\max}

(Quadro 7), de 59%. Isso demonstra declínio mais acentuado da expansão foliar do que das taxas fotossintéticas por unidade de área foliar, à semelhança do verificado por KHAMIS et al. (1990) e RAO e TERRY (1989), em plantas de milho e de beterraba-açucareira sob deficiência de N ou P, respectivamente, contribuindo para a redução da fotossíntese total da planta e, conseqüentemente, da produção.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Foi realizado um estudo para determinar os efeitos das deficiências isoladas ou simultâneas de N e P sobre o crescimento; os teores foliares de pigmentos, de Pi e de N total; as concentrações de compostos nitrogenados e de Pi no exsudato do xilema; e as taxas fotossintéticas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), aos 18 dias após a indução da deficiência nutricional. Para tal, sementes de feijoeiro foram germinadas em areia e transplantadas para caixas contendo solução nutritiva completa, com meia-força até 10 dias após a emergência. Posteriormente, foram fornecidas soluções nutritivas contendo 7,5 mol m⁻³ de N e 0,5 mol m⁻³ de P, para os níveis adequados de N e P, e 0,5 mol m⁻³ de N e 0,005 mol m⁻³ de P nos tratamentos sob deficiência desses elementos. Foram verificadas reduções no número de folhas; na área foliar; na massa seca dos pecíolos, folíolos, caules e total da planta; na taxa fotossintética líquida; e na taxa fotossintética líquida máxima, sob deficiências de N, de P e de N e P. Os teores foliares de clorofila *a*, clorofilas totais e N total foram reduzidos diante da deficiência de N e de N e P, assim como o teor foliar de Pi também o foi perante a deficiência de P e de N e P. Os teores de N total e Pi foram reduzidos do primeiro para o último trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta, independentemente dos níveis de N e P. Com relação à seiva do xilema, houve aumento na concentração de ureídeos sob deficiência de N e redução na concentração de nitrato sob deficiência de N e de N e P. A deficiência de P reduziu as concentrações de nitrato e

aminoácidos totais na seiva do xilema. As reduções das taxas de fotossínteses líquida e líquida máxima foram semelhantes nas plantas submetidas a quaisquer tratamentos de deficiência nutricional. As reduções na área foliar total das plantas sob deficiências, no entanto, foram mais acentuadas do que as observadas nas taxas fotossintéticas.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS DA CINÉTICA DE EMISSÃO DA FLUORESCÊNCIA RÁPIDA E DA FOTOSSÍNTESE DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) SOB DEFICIÊNCIA ISOLADA OU SIMULTÂNEA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Efeito do nitrogênio

Estudos têm evidenciado forte correlação positiva entre o teor de N da folha e a sua taxa fotossintética (EVANS, 1983, 1986; MAKINO et al., 1984). Não está bem claro, porém, como N é utilizado na síntese dos componentes do aparelho fotossintético (SAGE e PEARCY, 1987b). Sob deficiência de N, o aparelho fotossintético pode ser afetado de diversos modos. Em espinafre, EVANS e TERASHIMA (1987, 1988) e TERASHIMA e EVANS (1988) verificaram redução na quantidade de tilacóides por unidade de área foliar, não observando, entretanto, alterações nas propriedades das membranas. A quantidade de N alocada para as membranas dos tilacóides (cerca de 24% do N foliar) foi independente do nível de N fornecido na solução nutritiva (EVANS e TERASHIMA, 1987; TERASHIMA e EVANS, 1988). Em diversas espécies de plantas sob deficiência de N, o teor de

clorofila por unidade de área foliar mostrou-se reduzido (EVANS e TERASHIMA, 1987, 1988; TERASHIMA e EVANS, 1988; KHAMIS et al., 1990; PEÑUELAS et al., 1993). Verificaram-se, também, acentuadas reduções no giro e no teor de proteínas solúveis totais (SAGE et al., 1987c; SCHÄFER e HEIM, 1992). Segundo EVANS (1989), plantas submetidas à deficiência de N apresentaram decréscimo no teor de proteínas do ciclo de Calvin especialmente no teor da enzima Rubisco (LONGSTRETH e NOBEL, 1980; SAGE et al., 1987c; HÁK e NÄTR, 1987; MAKINO et al., 1994). Coletivamente, essas alterações podem prejudicar as etapas fotoquímica e bioquímica da fotossíntese. Entretanto, em plântulas de *Pinus banksiana* (TAN e HOGAN, 1995) e em plantas de ervilha e de trigo (MAKINO e OSMOND, 1991) sob deficiência de N, a capacidade de carboxilação mostrou-se mais prejudicada do que o transporte eletrônico e a fotofosforilação. Isso se deve, possivelmente, à maior mobilidade relativa das proteínas do ciclo de Calvin em relação às proteínas dos tilacóides envolvidas no transporte eletrônico, as quais estão frequentemente ligadas às membranas (EVANS, 1989).

Os valores das fluorescências inicial (F_0), máxima (F_m) e variável ($F_v = F_m - F_0$) e da razão F_v/F_m são obtidos na “fase rápida” da cinética de emissão de fluorescência (BOLHÁR-NORDENKAMPF e ÖQUIST, 1993). A F_0 pode ser definida como a intensidade da fluorescência quando todos os centros de reação do fotossistema II estão abertos, sendo gerada pela perda de energia de excitação através das moléculas de clorofila do sistema antena do fotossistema II (KRAUSE e WEISS, 1991). A F_m é atingida quando todos os centros de reação se tornam fechados (SMILLIE e HETHERINGTON, 1983), ou seja, quando o estoque de plastoquinonas se encontra reduzido (VERNOTTE et al., 1979). A razão F_v/F_m indica a eficiência fotoquímica do fotossistema II (KRAUSE e WEISS, 1991). Alterações observadas em F_0 , F_v , F_m e F_v/F_m podem indicar variações na capacidade fotossintética da planta, permitindo sua utilização na avaliação do efeito das deficiências nutricionais sobre a fotossíntese (HÁK et al., 1993). Plantas deficientes de N, por exemplo, apresentam frequentemente alterações nesses parâmetros (KHAMIS et al., 1990).

O efeito da deficiência de N sobre as trocas gasosas da folha também tem sido pesquisado. Estudos conduzidos por TAN e HOGAN (1995) evidenciaram que

a condutância estomática (g_s) não contribuiu para a redução na taxa fotossintética das plantas sob deficiência de N. Entretanto, folhas deficientes de N apresentam decréscimo em g_s e aumento na resistência mesofilica ao CO_2 , conforme observado por RADIN e ACKERSON (1981), WONG et al. (1985) e HÁK e NÁTR (1987). O aumento da resistência à difusão do CO_2 na fase líquida sob deficiência de N também pode causar decréscimo na atividade da Rubisco *in vivo* (EVANS e TERASHIMA, 1988).

1.2. Efeito do fósforo

Para funcionamento adequado das fases fotoquímica e bioquímica da fotossíntese, é necessário nível adequado de Pi nos cloroplastos e no citossol (HELDT et al., 1977; 1978). A concentração de Pi na folha influencia a taxa de fotossíntese por meio da operação do translocador triose-P/Pi, um antiporte localizado na membrana interna do envelope do cloroplasto que intermedia a troca entre Pi e triose-P (HELDT et al., 1977). Esse transportador permite a exportação de triose-P do estroma do cloroplasto para o citossol, pela troca por Pi, em estequiometria de 1 para 1 (HELDT et al., 1977). Desse modo, uma molécula de Pi torna-se disponível no estroma para posterior incorporação em triose-P. Para cada três moléculas de CO_2 fixadas, uma molécula de Pi é incorporada e, portanto, Pi deve estar em quantidade suficiente no cloroplasto para permitir a fixação do carbono (RAO e TERRY, 1989). A síntese de sacarose no citossol, a partir da triose-P produzida no estroma do cloroplasto, também libera Pi. Fósforo inorgânico também pode ser liberado no estroma do cloroplasto quando triose-P é utilizada na síntese de amido. Uma vez que Pi e triose-P são trocados através do translocador triose-P/Pi, as alterações na concentração de Pi no citossol podem afetar o ciclo de Calvin, pela alteração do nível de compostos intermediários fosforilados dentro do cloroplasto (RAO e TERRY, 1989).

Concentrações citossólicas supra-ótimas de Pi inibiram a assimilação do CO_2 em cloroplastos isolados de ervilha (FURBANK e LILLEY, 1980). O aumento do influxo de Pi promove um efluxo acentuado de triose-P do cloroplasto, comprometendo a regeneração da RuBP (HELDT et al., 1977). No entanto,

concentrações citossólicas subótimas de Pi na folha inibiram a taxa fotossintética em beterraba-açucareira (RAO et al., 1986; RAO et al., 1989; RAO e TERRY, 1989; RAO e TERRY, 1994), trigo (USUDA e EDWARDS, 1982; JACOB e LAWLOR, 1991), girassol e milho (JACOB e LAWLOR, 1991).

Plantas deficientes em P podem apresentar alterações na atividade da Rubisco e de outras enzimas do ciclo de Calvin, como cinase do fosfoglicerato, desidrogenase do gliceraldeído 3-fosfato dependente de NADP e transcetolase (RAO e TERRY, 1989), pirofosforilase da adenosina difosfato glicose, aldolase da frutose 1,6-bisfosfato (cloroplastídica), bisfosfatase da frutose 1,6-bisfosfato e outras enzimas relacionadas com a síntese de amido no cloroplasto (RAO et al., 1990). Além disso, podem apresentar, inclusive, aumento do fluxo de carbono para a síntese de amido (DIETZ e FOYER, 1986; RADIN e EIDENBOCK, 1986; BROOKS, 1986; BROOKS et al., 1988; RAO e TERRY, 1989; FREDEEN et al., 1989), que pode causar decréscimo na concentração de triose-P disponível e para regeneração da RuBP (HELDT et al., 1977; BROOKS, 1986; BROOKS et al., 1988; RAO e TERRY, 1989). Em plantas de beterraba-açucareira sob deficiência de P, a fotossíntese foi afetada pela restrição na regeneração da RuBP, mas isso não foi devido à escassez de ATP ou NADPH + H⁺ (RAO e TERRY, 1994). Parece que a limitação da regeneração da RuBP nessa condição ocorre na seqüência de reações posteriores à formação da triose-P (RAO e TERRY, 1994) e, mesmo quando Pi foi exaurido do meio, não se observou decréscimo significativo na fotofosforilação (ROBINSON e WALKER, 1981).

A eficiência fotoquímica das plantas (estimada pela razão F_v/F_m) sob deficiência de P pode ou não ser alterada. Em plantas de beterraba-açucareira cultivadas nessa condição, a eficiência fotoquímica permaneceu inalterada (ABADIA et al., 1987), enquanto em girassol, milho e trigo ocorreu aumento da razão F_v/F_m (JACOB e LAWLOR, 1991). Reduções em F_v/F_m sob deficiência de P foram observadas por CONROY et al. (1986), em plântulas de *Pinus radiata*, e, em plantas de girassol, por PLESNICAR et al. (1994).

O presente estudo objetivou determinar os efeitos das deficiências isoladas ou simultâneas de N e P sobre as características da fotossíntese e da

cinética de emissão da fluorescência rápida em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período compreendido entre novembro de 1996 e janeiro de 1997.

2.1. Material vegetal e condições de cultivo

Sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Negrito) foram inicialmente tratadas com solução de etanol 70%, por 1 minuto e, subsequente, com solução 10^{-3} kg L⁻¹ de HgCl₂ por 3 minutos. Em seguida, foram lavadas 5 vezes com água destilada estéril e, finalmente, tratadas em suspensão de 10^{-3} kg L⁻¹ do fungicida Benlate.

A semeadura foi realizada em areia grossa previamente lavada e autoclavada. Aos 4 dias após a emergência (DAE), as plântulas foram selecionadas e transplantadas para caixas de isopor forradas com plástico transparente contendo 4,5 L de solução nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950). Essa solução foi preparada com a metade da força iônica original e mantida sob arejamento contínuo. As deficiências de N, P e de N e P foram induzidas aos 10 DAE, conforme as soluções apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Composição das soluções nutritivas, adaptadas de HOAGLAND e ARNON (1950)

Fonte	Solução- Estoque (mol m ⁻³)	Volume da Solução-Estoque por L da Solução Nutritiva			
		Completa	Def. N	Def. P	Def N e P
Ca(NO ₃) ₂	10 ³	4,0	-	4,0	-
NH ₄ NO ₃	10 ³	1,0	0,5	1,0	0,5
KNO ₃	10 ³	5,0	-	5,0	-
KH ₂ PO ₄	10 ³	1,0	1,0	0,1	0,1
KCl	10 ³	-	5,0	1,0	6,0
MgSO ₄	10 ³	2,0	2,0	2,0	2,0
CaCl ₂	0,5 x 10 ³	-	4,0	-	4,0
Fe-EDTA	1,9	4,0	4,0	4,0	4,0
Micron.*	-	4,0	4,0	4,0	4,0

Composição da solução-estoque de micronutrientes: H₃BO₃ (4,62 x 10⁻² mol m⁻³) + ZnSO₄ (7,65 x 10⁻⁴ mol m⁻³) + CuSO₄ (3,20 x 10⁻⁴ mol m⁻³) + MnCl₂ (9,15 x 10⁻³ mol m⁻³) e H₂MoO₄ (1,85 x 10⁻⁴ mol m⁻³).

As concentrações finais de N e P nas soluções nutritivas foram de 7,5 mol m⁻³ de N e 0,5 mol m⁻³ de P, para os níveis adequados de N e P; e 0,5 mol m⁻³ de N e 0,005 mol m⁻³ de P, respectivamente, para deficiências de N e P, isoladas ou simultâneas. O pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente para 5,5, utilizando-se soluções de NaOH 0,1 mol m⁻³ ou HCl 0,1 mol m⁻³. As soluções nutritivas foram trocadas a cada cinco dias, sendo-lhes adicionados 2 mL de Fe-EDTA a cada dois dias.

O controle fitossanitário preventivo de doenças radiculares foi realizado com a adição de uma suspensão do fungicida Ridomil + Mancozeb 10⁻⁴ kg m⁻³ à solução nutritiva.

2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, adotando-se o esquema fatorial 2 x 2 na parcela (dois níveis de N e dois níveis de P); as subparcelas corresponderam às épocas de coleta de dados (seis épocas), com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de uma planta por vaso.

2.3. Avaliações

As avaliações das variáveis fotossintéticas e da cinética da emissão da fluorescência rápida foram realizadas entre 9 e 11 horas, aos 0, 6, 9, 12, 15 e 18 dias após a indução das deficiências nutricionais, quando as plantas estavam com idade de 10, 16, 19, 22, 25 e 28 DAE, respectivamente, conforme descrito nos tópicos subseqüentes.

2.3.1. Características da cinética de emissão da fluorescência rápida

As fluorescências inicial (F_0), variável (F_v) e máxima (F_m) e a razão entre as fluorescências variável e máxima (F_v/F_m) foram estimadas por meio de um fluorômetro, o analisador de eficiência de plantas (PEA, Hanstech, Norkfolk, Reino Unido). As medições foram feitas no folíolo central do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta, à temperatura da casa de vegetação, em folhas previamente adaptadas a 30 minutos de obscuridade, a fim de promover a abertura de todos os centros de reação do fotossistema II.

2.3.2. Características da fotossíntese

A condutância estomática (g_s), a taxa transpiratória (T), a concentração interna de CO_2 na câmara subestomática (C_i) e a taxa fotossintética líquida (A) foram determinadas no mesmo folíolo onde se estimaram as características da fluorescência. Para tal, foi utilizado um analisador de gases a infravermelho, portátil, em sistema aberto (LCA2, ADC, Hoddesdon, Reino Unido). As medições foram realizadas à temperatura ambiente da casa de vegetação (28-

34⁰C), sob luz artificial saturante de 800-850 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, determinada a partir da curva de irradi\u00e2ncia fixada com valores de fotoss\u00edntese l\u00edquida, medida em diferentes irradi\u00e2ncias.

2.4. An\u00e1lises estat\u00edsticas

As an\u00e1lises de vari\u00e2ncia e de regress\u00e3o foram realizadas pelo Sistema para An\u00e1lise Estat\u00edsticas e Gen\u00e9ticas (SAEG) desenvolvido pela UFV e pelo Sistema Estat\u00edstico (ESTAT) desenvolvido pela UNESP. O teste F a 1 e 5% de signific\u00e2ncia foi utilizado na an\u00e1lise de vari\u00e2ncia e considerado conclusivo nos contrastes entre duas m\u00e9dias. Nas intera\u00e7\u00f5es significativas entre parcela e subparcela, procedeu-se ao desdobramento, sendo utilizado na an\u00e1lise dos resultados o teste F a 1 e 5% de signific\u00e2ncia ou o modelo de equa\u00e7\u00f5es linear, quadr\u00e1tica e c\u00fabica, nas \u00e9pocas de coleta dos dados. As equa\u00e7\u00f5es de regress\u00e3o obtidas n\u00e3o demonstraram significado biol\u00f3gico e, portanto, n\u00e3o foram aqui apresentadas.

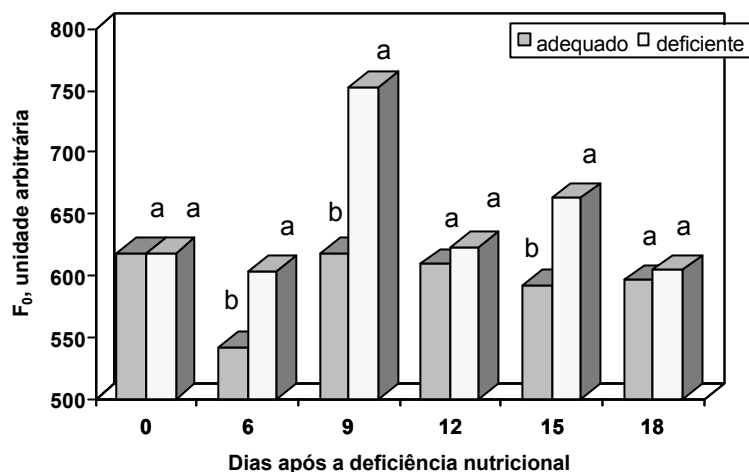
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre as características da cinética de emissão da fluorescência rápida

Na Figura 1 estão apresentados os valores médios de F_0 do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice das plantas, em razão dos níveis de N e do tempo de indução da deficiência nutricional. Observa-se nessa figura que, aos 6, 9 e 15 dias após a indução das deficiências, a F_0 média das plantas cultivadas em nível deficiente de N foi superior à das plantas cultivadas em nível adequado desse elemento. Apesar de nem sempre as médias serem significativamente diferentes, ocorreu tendência de incremento de F_0 sob deficiência de N.

Houve redução de 12% na fluorescência máxima (F_m) das plantas crescidas sob deficiência de N, em relação às plantas cultivadas sob níveis de N e P adequados. Não houve diferença em F_m das plantas cultivadas sob deficiência de N e de N e P (Quadro 2).

Na Figura 2, observa-se que, a partir da indução da deficiência de N, ocorreram decréscimos em F_m das plantas, em relação àquelas cultivadas sob nível adequado de N.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

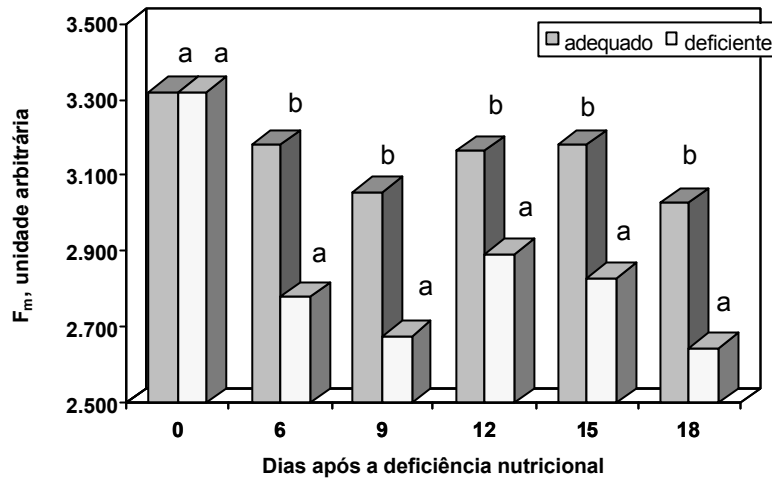
Figura 1 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a fluorescência inicial (F_0) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

Quadro 2 - Efeito dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre a fluorescência máxima (F_m) e a fluorescência variável (F_v) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional

Nível de		Características	
P	N	F_m	F_v
(mol m ⁻³)			
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	3.211 A a	2.626 A a
0,5 (adeq)	0,5 (def)	2.829 B a	2.186 B a
0,005 (def)	7,5 (adeq)	3.099 A a	2.492 A b
0,005 (def)	0,5 (def)	2.886 B a	2.240 B a

Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras

minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

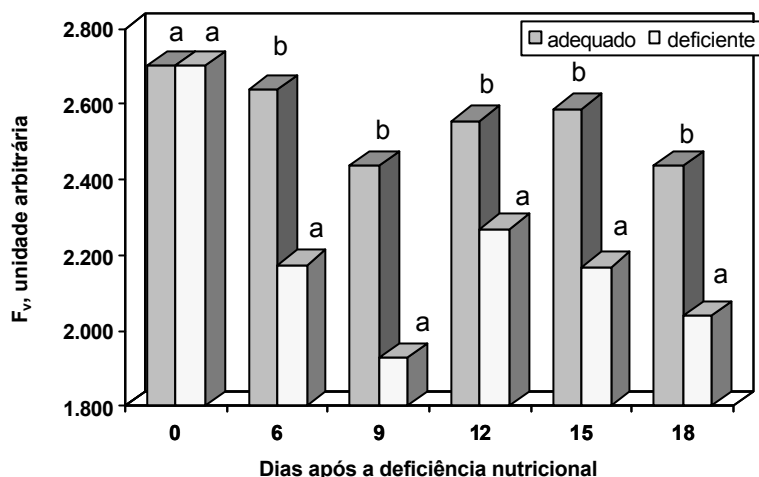


Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 2 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a fluorescência máxima (F_m) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

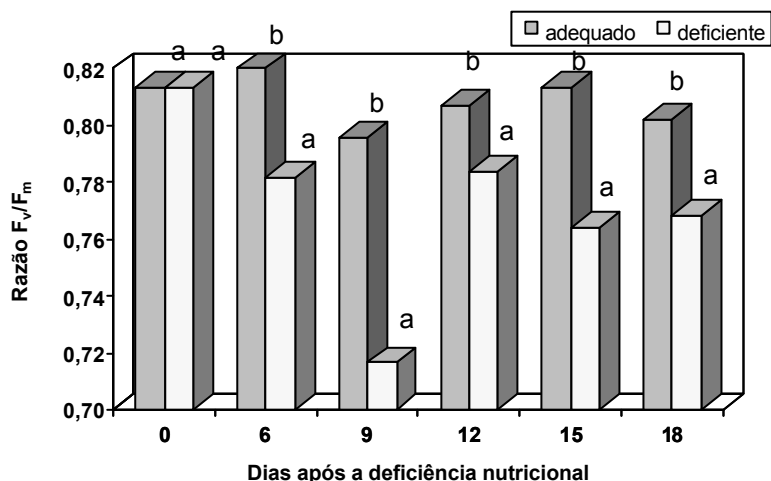
Sob deficiências de N ou P, ocorreram reduções de cerca de 17 e 5%, respectivamente, em F_v das plantas em relação aos níveis adequados de N e P. Não houve diferença em F_v das plantas sob deficiência de N e P, em relação às plantas sob deficiência de N. Entretanto, houve decréscimo de cerca de 10% em F_v das plantas sob deficiências de N e P, em relação àquelas sob deficiência de P (Quadro 2). As reduções em F_v das plantas sob deficiência de N ocorreram logo após a indução da deficiência, conforme mostrado na Figura 3.

Em consequência das alterações de F_0 e de F_m das plantas, a razão F_v/F_m sob nível deficiente de N foi diminuída, em relação ao nível adequado de N, após a indução da deficiência nutricional, independentemente do nível de P (Figura 4). Reduções na razão F_v/F_m foram também observadas em cultivo de células de *Chenopodium rubrum* (SCHÄFER e HEIM, 1992) e em folhas de plantas de milho (KHAMIS et al., 1990) cultivadas em nível deficiente de N.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 3 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a fluorescência variável (F_v) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 4 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a razão entre fluorescência variável e fluorescência máxima (F_v/F_m) do primeiro trifólio completamente

expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

O aumento de F_0 sob nível deficiente de N pode ter sido ocasionado pelo decréscimo nos teores de clorofilas totais e carotenóides (Capítulo 1, Quadro 4), demonstrando incremento da perda de energia de excitação em nível do sistema antena do fotossistema II (KRAUSE e WEISS, 1991). O aumento de F_0 pode caracterizar também destruição ou inativação dos centros de reação do fotossistema II (SOMERSALO e KRAUSE, 1990).

A redução de F_m nas plantas cultivadas sob deficiências de N e de N e P indica diminuição na velocidade de reoxidação das plastoquinonas reduzidas, devida à redução na transferência de elétrons para o fotossistema I e ao menor consumo de poder redutor ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) durante a fixação do CO_2 (KRAUSE e WEISS, 1991). Nas plantas sob deficiência de N e de N e P, verificou-se redução no teor de N total foliar (Capítulo 1, Quadro 5) e, provavelmente, na síntese de proteínas dessas plantas. A redução em F_v/F_m das plantas sob deficiência de N indicou diminuição na eficiência fotoquímica do fotossistema II (KRAUSE e WEISS, 1991).

A deficiência de P alterou somente F_v das plantas. Isso permitiu afirmar que a deficiência desse elemento mineral, imposta no nível de $0,005 \text{ mol m}^{-3}$ no período estudado, causou reduções menos severas do que as deficiências de N e de N e P. Os teores de pigmentos e de NTN não foram afetados pela deficiência de P, o que poderia explicar o pequeno efeito da deficiência sobre os parâmetros da fluorescência. Deficiência de N provavelmente afetou a absorção de energia luminosa e o transporte eletrônico da fotossíntese. Esse resultado indica que somente a translocação de compostos nitrogenados das partes mais velhas para as mais novas da planta não foi capaz de restabelecer a integridade do aparelho fotossintético e a eficiência fotoquímica dos cloroplastos no trifólio recém-expandido.

3.2. Efeito isolado ou simultâneo das deficiências de nitrogênio e fósforo sobre as características da fotossíntese

Como se verifica no Quadro 3, sob deficiências de N ou P ocorreram reduções em g_s das plantas, respectivamente, de cerca de 36 e 28%, em comparação com os níveis adequados de N e P. Plantas cultivadas sob deficiência de N e P apresentaram acréscimos de 19% em g_s , em relação às plantas sob deficiência de N, e de 10%, em relação às plantas sob deficiência de P. As alterações encontradas em g_s nas plantas cultivadas com deficiências podem estar relacionadas com fechamento estomático, mas também com redução do número de estômatos ou, ainda, redução do tamanho do poro estomático. Decréscimos em g_s de plantas de feijão e de pimenta deficientes de N foram verificados por PEÑUELAS et al. (1993) e, em plantas de beterraba, girassol, trigo e milho deficientes de P, por RAO e TERRY (1989) e JACOB e LAWLOR (1991).

A concentração subestomática de CO_2 das plantas cultivadas sob nível deficiente de N foi aumentada em aproximadamente 12%, em relação ao nível adequado de N. Entretanto, o aumento de C_i foi independente do nível de P da solução nutritiva (Quadro 3). Em beterraba-açucareira houve redução de C_i sob deficiência de P; em plantas de milho sob deficiência de N ou P, C_i permaneceu inalterada (RAO e TERRY, 1989; WONG et al., 1985). Segundo DA MATTA et al. (1997), C_i não representa a concentração efetiva de CO_2 em nível de cloroplasto. Além disso, o aumento de C_i nas plantas sob deficiência de N pode ter sido ocasionado pela própria diminuição da carboxilação ou, ainda, pelo aumento da resistência à difusão em CO_2 na fase líquida no mesófilo da folha (RADIN e ACKERSON, 1981; WONG et al., 1985; HÁK e NÁTR, 1987).

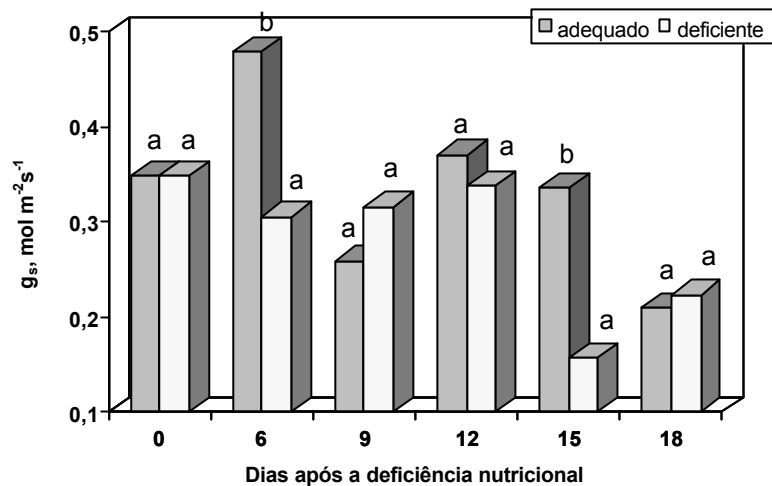
Sob deficiências de N ou P, os decréscimos em T das plantas foram de 19 e 15%, respectivamente, em relação aos níveis adequados de N e P. Esses decréscimos foram inferiores aos encontrados para g_s . A taxa transpiratória das plantas sob deficiência de N e P não diferiu das plantas sob deficiência de N ou P (Quadro 3).

Quadro 3 - Efeito isolado ou simultâneo dos níveis adequados de N e P e de suas deficiências sobre a condutância estomática (g_s), a concentração subestomática de CO_2 (C_i), a taxa transpiratória (T) e a taxa fotossintética líquida (A) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional

Nível de		Características			
P	N	g_s	C_i	T	A
mol m ⁻³		(mol m ⁻² s ⁻¹)	($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	(mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	($\mu\text{mol CO}_2$ m ⁻² s ⁻¹)
0,5 (adeq)	7,5 (adeq)	0,39 A a	233	2,81 A a	16,57 A a
0,5 (adeq)	0,5 (def)	0,25 B a	252	2,28 B a	9,61 B a
0,005 (def)	7,5 (adeq)	0,28 A b	234	2,40 A a	12,63 A b
0,005 (def)	0,5 (def)	0,31 B b	273	2,61 A a	9,36 B a
•	7,5 (adeq)		234 b		
•	0,5 (def)		263 a		
0,5 (adeq)	•		243		
0,005 (def)	•		254		

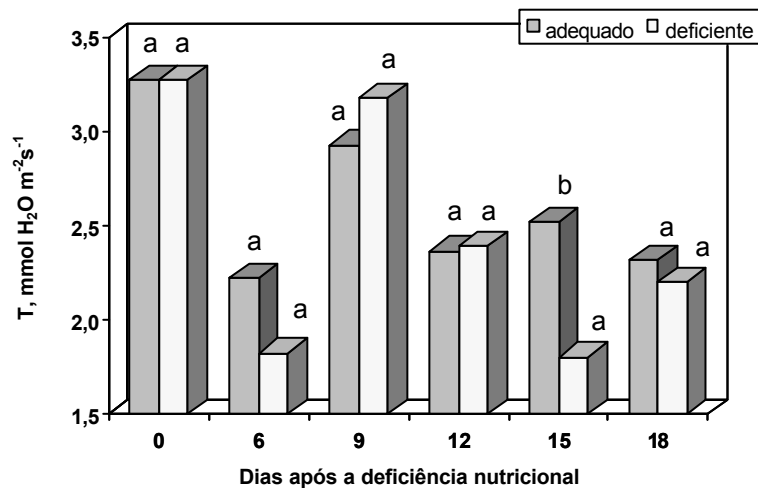
Para um mesmo nível de P, as comparações devem ser feitas entre duas médias seguidas por letras maiúsculas e, para um mesmo nível de N, entre duas médias seguidas por letras minúsculas. Assim, médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Na Figura 5, os valores médios de g_s estão apresentados conforme os níveis de N na solução nutritiva e o tempo de deficiência nutricional. Como se pode observar nessa figura, somente aos 6 e 15 dias de deficiência g_s no nível deficiente, mostrou-se reduzida em relação ao nível adequado de N. A taxa transpiratória das plantas cultivadas sob nível deficiente de N foi reduzida somente aos 15 dias após a indução da deficiência nutricional, em comparação com plantas cultivadas no nível adequado de N (Figura 6).



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 5 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

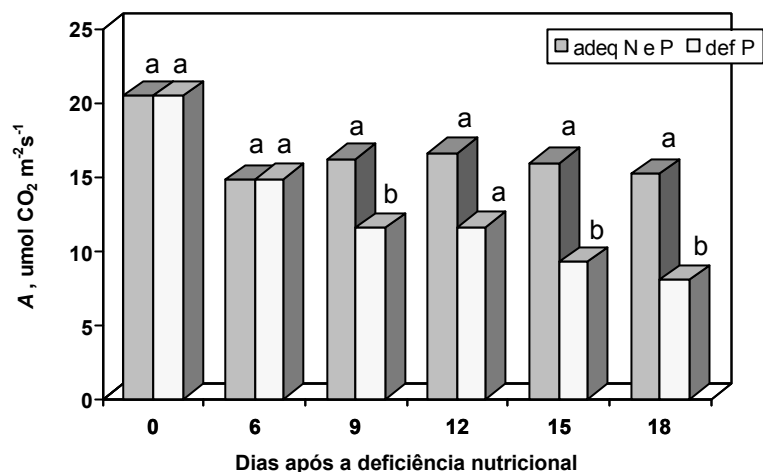
Figura 6 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) sobre a taxa transpiratória (T , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

Embora anteriormente os valores médios de g_s e T em deficiências de N e de N e P tivessem sido reduzidos (Quadro 3), quando se observa o comportamento dessas características em razão do tempo de indução de deficiência nutricional e do nível de N o efeito da deficiência de N fica menos evidente (Figuras 5 e 6).

Nas plantas sob deficiências de N ou P ocorreram reduções em A de cerca de 42 e 24%, respectivamente, em relação às plantas sob níveis adequados de N e P. Não houve diferenças em A entre as plantas deficientes de N e as deficientes de N e P. Portanto, pode-se inferir que o decréscimo ocorrido em A nas plantas sob deficiência de N foi semelhante ao ocorrido naquelas deficientes de N e P, em comparação com os níveis adequados de N e P (Quadro 2).

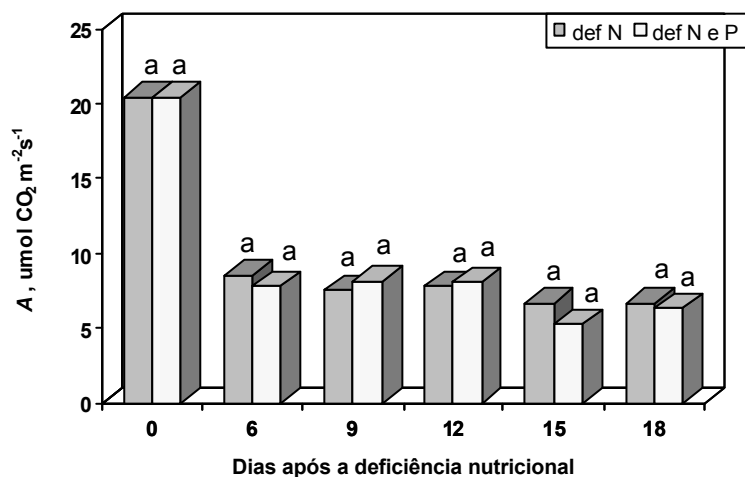
No Quadro 7 do Capítulo 1, mostra-se que A nas plantas sob deficiência de P não diferiu das deficiências de N e de N e P. No entanto, os resultados do Quadro 3 deste Capítulo indicam que A das plantas sob deficiência de P difere de A das plantas crescidas com deficiências de N e de N e P. Esse fato deveu-se a diferenças nas avaliações, uma vez que, no Quadro 7 do Capítulo 1, essas foram realizadas somente aos 18 dias após a indução das deficiências nutricionais, enquanto neste Capítulo foram tomadas de 0 a 18 dias após a indução das deficiências.

Na Figura 7 são apresentados os valores médios de A para os níveis adequados de N e P e para a deficiência de P, em razão do tempo de deficiência nutricional. Como se pode observar nessa figura, somente a partir de 9 dias de indução da deficiência nutricional é que A , sob deficiência de P, tornou-se inferior à A das plantas sob níveis adequados de N e P. A manutenção de altas taxas fotossintéticas, mesmo após a deficiência de P na solução nutritiva, deveu-se, provavelmente, ao transporte do Pi do vacúolo da célula ou da retranslocação pela planta. Aos 18 dias após a indução da deficiência, a A das plantas sob deficiência de P foi cerca de $8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, que representou redução de 47% em relação à A das plantas cultivadas sob níveis adequados de N e P.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 7 - Efeito do nível adequado de P ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de P) e de sua deficiência ($0,005 \text{ mol m}^{-3}$ de P), dentro do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N), sobre a taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

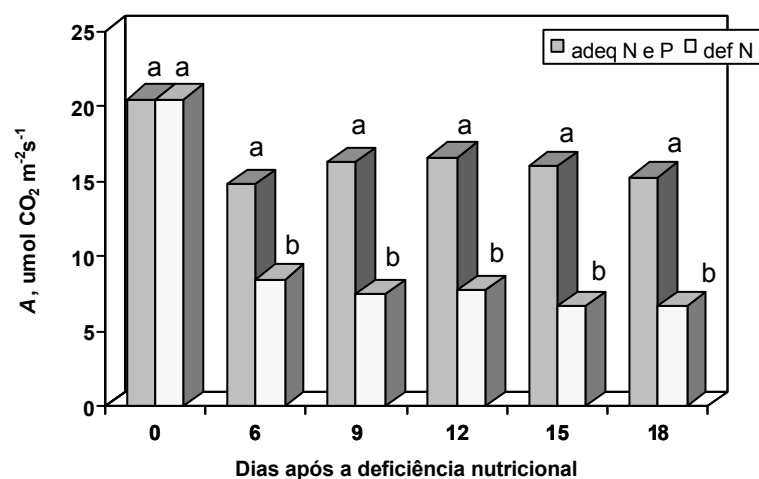
Figura 8 - Efeito do nível adequado de P ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de P) e de sua deficiência ($0,005 \text{ mol m}^{-3}$ de P), dentro do nível deficiente de N ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N), sobre a taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

Nas plantas sob deficiência de N e de N e P não ocorreram diferenças em A em nenhum dos tempos de indução de deficiência nutricional (Figura 8). Nos dois

tratamentos, A declinou rapidamente a partir de 6 dias após a indução das deficiências nutricionais e se manteve constante até o final do experimento. Isso indica que não houve efeitos aditivos entre as deficiências (Figura 8).

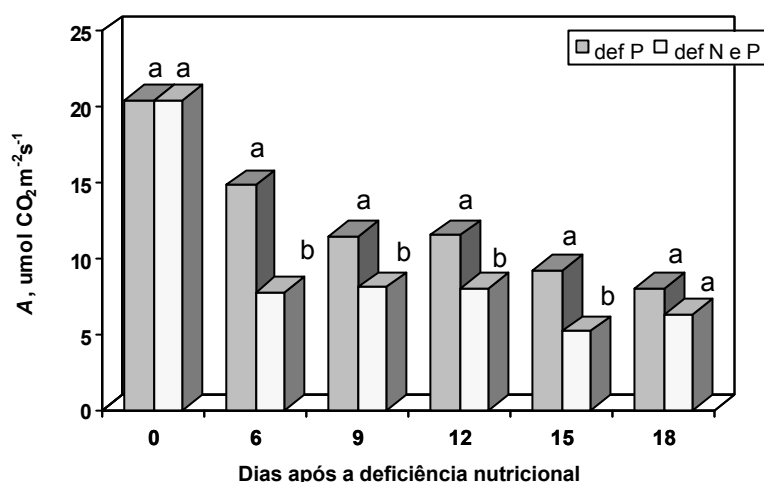
A taxa fotossintética líquida das plantas nos níveis adequados de N e P e na deficiência de N está apresentada na Figura 9. As diferenças em A entre os dois tratamentos ocorreram a partir de 6 dias de deficiência nutricional e foram bastante acentuadas. Aos 18 dias após a indução da deficiência, a A das plantas sob deficiência de N foi de aproximadamente $7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, que representou um decréscimo de 56% em relação à A das plantas cultivadas em níveis adequados de N e P.

Na Figura 10, mostra-se o efeito das deficiências de P e de N e P sobre a A . Aos 6, 9, 12 e 15 dias de deficiência nutricional, a A das plantas sob deficiência de P foi superior à daquelas sob deficiência de N e P. Entretanto, aos 18 dias nessas deficiências, A atingiu valores médios semelhantes (cerca de $7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$).



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 9 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N), dentro do nível adequado de P ($0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de P), sobre a taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.



Médias seguidas por letras distintas entre duas barras diferem a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figura 10 - Efeito do nível adequado de N ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N) e de sua deficiência ($7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N), dentro do nível deficiente de P ($0,005 \text{ mol m}^{-3}$ de P), sobre a taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), de 0 a 18 dias de deficiência nutricional.

As plantas sob deficiências de N e de N e P apresentaram declínio em A já aos 6 dias de deficiência nutricional, em comparação com plantas cultivadas sob níveis adequados de N e P, enquanto sob deficiência de P esse declínio ocorreu somente a partir de 9 dias (Figuras 7, 8, 9, 10). Portanto, a deficiência de P afetou mais lentamente a taxa fotossintética líquida, em comparação com as deficiências de N e de N e P (Figuras 7, 8, 9, 10). Comparando a deficiência de P com a de N e P, observou-se que a deficiência de N e P foi mais efetiva na redução de A do que a deficiência de P (Figura 10). Considerando que valores de A sob deficiência de N e P não diferiram daqueles obtidos sob deficiência de N, em nenhum dos tempos de

deficiência (Figura 8) se pôde inferir que a deficiência de N também foi mais efetiva na redução de A do que a de P. Sob deficiência de P não houve alteração dos teores foliares de Cl ($a+b$), Car e NTN (Quadros 4 e 5 do Capítulo 1). Além disso, os parâmetros da fluorescência indicaram que, em plantas sob deficiência de P, praticamente não houve alteração da absorção e transferência de energia luminosa, bem como na cadeia de transporte de elétrons (Quadro 2). O teor foliar de Pi, estimado aos 18 dias de deficiência nutricional, foi de $0,14 \text{ mmol m}^{-3}$ e representou uma redução de 81% no teor de Pi (Quadro 5 do Capítulo 1), em relação ao teor de plantas cultivadas sob níveis adequados de N e P. Essa redução contribuiu para um declínio de 47% em A , em relação às plantas cultivadas sob níveis adequados de N e P (Figura 6). É provável que o teor de Pi tenha-se reduzido gradativamente; segundo LOUGHAMAN et al. (1989), a concentração de Pi no citoplasma e cloroplasto de folhas sob deficiência de P decresce progressivamente até atingir uma concentração capaz de inibir a fotossíntese. Resultados semelhantes foram obtidos por USUDA e SHIMOGAWARA (1992), em plantas de milho cultivadas após o transplântio em solução nutritiva contendo $0,5$ e $0,001 \text{ mol m}^{-3}$ de P. Esses autores demonstraram que aos 13 dias após o transplântio em nível deficiente, apesar de o teor de Pi da folha ser menor, a taxa fotossintética das plantas ainda permanecia alta; somente aos 21 dias após o transplântio é que ocorreu declínio acentuado da fotossíntese. Não houve diferenças nos teores foliares de clorofilas totais e proteínas entre os níveis adequado e deficiente de P, e os autores estimaram que seria necessário no mínimo $0,65 \text{ mmol m}^{-2}$ de Pi para se atingir a taxa máxima de fotossíntese líquida. É necessário um teor mínimo de Pi no cloroplasto para evitar o desvio do fluxo de triose-P para a biossíntese de amido, que impede a regeneração da RuBP. Possivelmente, a redução na regeneração da RuBP tenha sido a causa principal da redução da fotossíntese sob deficiência de P, observada neste estudo.

O rápido declínio da taxa fotossintética por unidade de área foliar sob deficiência de N e de N e P possivelmente se deveu, em parte, ao decréscimo rápido nos teores foliares de clorofilas, N e proteínas, à semelhança do verificado por SCHÄFER e HEIM (1992) e ROBINSON (1996). De fato, aos 6 dias após a indução da deficiência de N e de N e P, o sintoma de clorose começou a ser

vizualizado nos trifólios mais velhos da planta e, aos 18, foram constatadas reduções nos teores de Cl ($a+b$) e NTN (Quadros 4 e 5 do Capítulo 1). Plantas de girassol cultivadas sob deficiência de N apresentaram menor teor de N na planta inteira e na folha nova, já aos cinco dias após a emergência (ONO et al., 1996). Em plantas de *Nicotiana tabacum* L., a taxa fotossintética e a atividade e o teor foliar da Rubisco decresceram três dias após a ausência de N na solução nutritiva. Apesar disso, o teor de clorofilas não foi sensivelmente alterado até oito dias após a ausência de N (PAUL e DRISCOLL, 1997).

As reduções nos teores de Cl ($a+b$), Car e, provavelmente, nos teores de proteínas totais, ocorridas sob deficiências de N e de N e P, indicaram danos no sistema antena e nos tilacóides dos cloroplastos, o que pode ter afetado a absorção da energia luminosa e o transporte de elétrons, conforme indicado pelos parâmetros da fluorescência (Quadro 2 e Figuras 1, 2, 3, 4 e 5). É provável, também, que o teor da enzima Rubisco tenha sido reduzido devido à queda do teor de NTN, contribuindo para a redução de *A*.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Os efeitos das deficiências de N e P, isoladas ou simultâneas, sobre as características da emissão de fluorescência e da fotossíntese do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) foram estudados aos 0, 6, 9, 12, 15 e 18 dias após a indução das deficiências. Para tal, sementes de feijoeiro foram germinadas em areia e transplantadas para caixas contendo solução nutritiva completa, com meia-força, até 10 dias após a emergência. Posteriormente, foram fornecidas soluções nutritivas contendo 7,5 mol m⁻³ de N e 0,5 mol m⁻³ de P, para os níveis adequados de N e P; e 0,5 mol m⁻³ N e 0,005 mol m⁻³ de P, nos tratamentos sob deficiência desses elementos. Verificou-se que a deficiência de N causou aumento na fluorescência inicial e redução na razão entre as fluorescências variável e máxima das plantas. Sob deficiências de N e de N e P ocorreram reduções nas fluorescências máxima e variável das plantas. Sob deficiência de P ocorreu redução na fluorescência variável. A condutância estomática e a taxa transpiratória das plantas foram reduzidas sob deficiências de N, de P e de N e P. Sob deficiência de N ocorreu aumento da concentração subestomática de CO₂, independentemente do nível de P da solução nutritiva. Deficiências de N e de N e P acarretaram decréscimos mais efetivos na taxa fotossintética líquida do que a deficiência de P. A limitação da taxa fotossintética líquida pela deficiência de N pode ter sido consequência das reduções nos teores de clorofilas, carotenóides e N total e devida ao aumento da fluorescência inicial, às reduções nas fluorescências máxima

e variável e à razão entre fluorescências variável e máxima das plantas. A limitação da taxa fotossintética líquida pela deficiência de P pode ter sido consequência da diminuição do teor de Pi no tecido foliar e do decréscimo da fluorescência variável das plantas.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). As sementes foram germinadas em areia e as plântulas, transplantadas para caixas contendo solução nutritiva completa, com meia-força, até 10 dias após a emergência. Posteriormente, forneceram-se soluções nutritivas contendo $7,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N e $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de P, para os níveis adequados de N e P; e $0,5 \text{ mol m}^{-3}$ de N e $0,005 \text{ mol m}^{-3}$ de P, nos tratamentos sob deficiência desses elementos. No primeiro experimento, determinaram-se os efeitos das deficiências isoladas ou simultâneas de N e P sobre o crescimento e as características bioquímicas, aos 18 dias após a indução das deficiências. No segundo experimento, determinaram-se os efeitos dessas deficiências sobre as características fotossintéticas, aos 0, 6, 9, 12, 15 e 18 dias após a indução das deficiências.

Verificaram-se reduções em número de folhas, área foliar, massa seca dos pecíolos, folíolos, caules e total da planta, taxa fotossintética líquida, taxa fotossintética líquida máxima, condutância estomática e taxa transpiratória das plantas sob deficiências de N, de P e de N e P. Sob deficiência de N, observaram-se aumento na fluorescência inicial e decréscimos na fluorescência máxima, na fluorescência variável, na razão entre as fluorescências variável e máxima e nos teores foliares de clorofilas, carotenóides e N total das plantas. Sob deficiência de P, verificaram-se diminuições no teor de Pi do tecido foliar e na fluorescência

variável das plantas. Deficiências de N e de N e P promoveram decréscimos mais efetivos na taxa fotossintética líquida do que a deficiência de P. Não houve efeito aditivo das deficiências de N e P sobre a taxa fotossintética. A deficiência de nitrogênio estimulou a fixação simbiótica do dinitrogênio, porém houve necessidade de nível adequado de P na solução nutritiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADIA, J., RAO, I.M., TERRY, N. Changes in leaf phosphate status have only small effects on the photochemical apparatus of sugar beet leaves. **Plant Science**, Amsterdam, v.50, n.1, p.49-55, 1987.
- AIDAR, H., FERREIRA, P.R.C. Introdução. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5, 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA/CNPAF/APA, 1996. p.1 (EMBRAPA/CNPAF. Documentos, 69).
- ALVES, V.M., NOVAIS, R.F., OLIVEIRA, M.F.G. De et al. Açúcares solúveis em quatro híbridos de milho sob omissão e ressuprimento de fósforo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.1, n.1, p.97-106, 1995.
- BENTON JONES, J., WOLF, B., MILLS, H.A. **Plant Analysis Handbook. Micro-Macro**. Atenas: Publishing Inc, 1991. 213p.
- BIELISKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.24, p.225-252, 1973.
- BIELISKI, R.L., FERGUSON, I.B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: LÄUCHLI, A., BIELISKE, R. L. (Ed.). **Encyclopedia of Plant Physiology**. Berlin: Springer-Verlag, 1983. v.15.
- BOLHÁR-NORDENKAMPF, H.R., ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D.O., SCURLOCK, J.M.O., BOLHÁR-NORDENKAMPF, H.R. et al. (Ed.). **Photosynthesis and production in changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. p.193-206.
- BRAGA, J.M., DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em

- extratos de solos e plantas. **Ceres**, Viçosa, v.21, n.113, p.73-85, 1974.
- BROOKS, A. Effects of phosphorus nutrition on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activation, photosynthetic quantum yield and amounts of some Calvin cycle metabolites in spinach leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.13, n.2, p.221-237, 1986.
- BROOKS, A, WOO, K.C., WOUNG, S.C. Effects of phosphorus nutrition on the response of photosynthesis to CO₂ and O₂, activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and amounts of ribulose bisphosphate and 3-phosphoglycerate in spinach leaves. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v.15, p.133-141, 1988.
- CAKMAK, I., HENGELER, C., MARSCHNER, H. Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.45, n.278, p.1245-1250, 1994.
- CAMPBELL, C.A., DAVIDSON, H.R., McCAIG, T.N. Disposition of nitrogen and soluble sugars in manitou spring wheat as influenced by N fertilizer, temperature, and duration and stage of moisture stress. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.63, n.1, p.73-90, 1983.
- CATALDO, D.A., SCHRADER, L.E., YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissues by nitration of salicylic acid. **Soil Science and Plant Analysis Communications**, Monticello, v.6, p.71-80, 1975.
- CHO, M-J., HARPER, J.E. Effect of inoculation and nitrogen on isoflavonoid concentration in wild-type and nodulation-mutant soybean roots. **Plant Physiology**, Rockville, v.95, n.2, p.435-442, 1991a.
- CHO, M-J., HARPER, J.E. Effect of localized nitrate application on isoflavonoid concentration and nodulation in split-root systems of wild-type and nodulation-mutant soybean plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.95, n.4, p.1106-1112, 1991b.
- CLARKSON, D.T., HANSON, J.B. The mineral nutrition of higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.31, p.239-298, 1980.
- CONROY, J.P., SMILLIE, M., KÜPPERS, M. et al. Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic and growth responses of *Pinus radiata* to phosphorus deficiency, drought stress, and high CO₂. **Plant Physiology**, Rockville, v.81, n.2, p.423-429, 1986.
- CONROY, J.P., MILHAM, P.J., REED, L.M. et al. Increases in phosphorus requirements for CO₂-enriched pine species. **Plant Physiology**, Rockville,

v.92, n.4, p.977-982, 1990.

- DA MATTA, F. M., MAESTRI, M., MOSQUIM, P. R. et al. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* e *C. Canephora*) as affected by winter and summer conditions. **Plant Science**, Amsterdam, v. 128, n. 1, p.43-50, 1997.
- DEJONG, T.M., PHILLIPS, D.A. Nitrogen stress and apparent photosynthesis in symbiotically grown *Pisum sativum* L. **Plant Physiology**, Rockville, v.68, n.2, p.309-313, 1981.
- DIETZ, K.J., FOYER, C. The relationship phosphate status and photosynthesis in leaves; reversibility of the effects of phosphate deficiency on photosynthesis. **Planta**, Berlin, v.167, n.3, p.376-381, 1986.
- DILWORTH, M.J. Dinitrogen fixation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.25, p.181-214, 1974.
- EVANS, J.R. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v.72, n.2, p.297-302, 1983.
- EVANS, J.R. The relationship between carbon-dioxide-limited photosynthetic rate and ribulose-1,5-bisphosphate-carboxylase content in two nuclear-cytoplasm substitution lines of wheat, and the coordination of ribulose-1,5- bisphosphate-carboxylation and electron-transport capacities. **Planta**, Berlin, v.167, n.3, p.351-358, 1986.
- EVANS, J.R., TERASHIMA, I. The effects of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in spinach. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.14, n.1, p.59-68, 1987.
- EVANS, J.R., TERASHIMA, I. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatments. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.29, n.1, p.157-165, 1988.
- EVANS, J.R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves. **Oecologia**, v.78, p.9-19, 1989.
- FREDEEN, A.L., RAO, I.M., TERRY, N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. **Plant Physiology**, Rockville, v.89, n.1, p.225-230, 1989.
- FREDEEN, A.L., RAAB, T.K., RAO, I.M. et al. Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis in *Glycine max* L Merr. **Planta**, Berlin, v.181, p.399-405, 1990.
- FURBANK, R.T., LILLEY, Mcc. Effects of inorganic phosphate on the photosynthetic carbon reduction cycle in extracts from the stroma of pea chloroplasts. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.592, p.65-75, 1980.

- GIBSON, A.H., HAPER, J.E. Nitrate effect of nodulation of soybean by *Bradyrhizobium japonicum*. **Crop Science**, Madison, v.25, n.3, p.497-501, 1985.
- GUIDI, L., PALLINI, M., SOLDATINI, G.H. Influence of phosphorus deficiency on photosynthesis in sunflower and soybean plants. **Agrochimica**, Pisa, v.38, n.3, p.211-223, 1994.
- HÁK, R., NÁTR, L. Effect of nitrogen starvation and recovery on gas exchange characteristics of young barley leaves. **Photosynthetica**, Prague, v.21, n.1, p.9-14, 1987.
- HÁK, R., RINDERLE-ZIMMER, LICHTENTHALER, H.K. et al. Chlorophyll a fluorescence signatures of nitrogen deficient barley leaves. **Photosynthetica**, Prague, v.28, n.1, p.151-159, 1993.
- HAUSCHILD, T., CIERESZKO I., MALESZEWSKI, S. Influence of phosphorus deficiency on post-irradiation burst of CO₂ from bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. **Photosynthetica**, Prague, v.32, n.1, p.1-9, 1996.
- HELDT, H.W., CHON, C.J., MARONDE, D. et al. Role of orthophosphate and other factors in the regulation of starch formation in leaves and isolated chloroplasts. **Plant Physiology**, Rockville, v.59, n.6, p.1146-1155, 1977.
- HELDT, H.W., CHON, C.J., LORIMER, G.H. Phosphate requirement for the light activation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in intact spinach chloroplasts. **Federation of European Biological Societies Letters**, Amsterdam, v.92, p.234-240, 1978.
- HENDRY, G.A.F., PRICE, J.P. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G.A.F., GRIME, A.H. **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. p.148-152.
- HIROSE, T., WERGER, M.J.A. Nitrogen use efficiency in instantaneous and daily photosynthesis of leaves in the canopy of a *Solidago altissima* stand. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.70, n.2, p.215-222, 1987.
- 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.
- HOGUE, E., WILCOX, G.E., CANTLIFFE, D.J. Effect of soil phosphorus levels on phosphate fractions in tomato leaves. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.95, n.2, p.174-176, 1970.
- HUNGRIA, M., NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen

- fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.103, n.1, p.111-121, 1987.
- HUNGRIA, M., BARRADAS, C.A.A., WALLSGROVE, R.M. Nitrogen fixation, assimilation and transport during the initial growth stage of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.42, n.240, p.839-844, 1991.
- ISRAEL, D.W. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. **Plant Physiology**, Rockville, v.84, n.3, p.835-840, 1987.
- ISRAEL, D.W., RUFTY Jr., T.W. Influence of phosphorus nutrition on phosphorus and nitrogen utilization efficiencies and associated physiological responses in soybean. **Crop Science**, Madison, v.28, n.6, p.954-960, 1988.
- JACOB, J., LAWLOR, D.W. Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.42, n.241, p.1003-1011, 1991.
- JACOB, J., LAWLOR, D.W. Extreme phosphate deficiency decreases the in vivo CO₂/O₂ specificity factor of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in intact leaves of sunflower. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.44, p.1635-1641, 1993.
- KHAMIS, S., LAMAZE, T., LEMOINE, Y. et al. Adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. **Plant Physiology**, Rockville, v.94, n.3, p.1436-1443, 1990.
- KRAUSE, G.H., WEISS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.313-349, 1991.
- KU, M.S.B., SCHMITT, M.R., EDWARDS, G.E. Quantitative determination of RuBP carboxylase-oxygenase protein in leaves of several C₃ e C₄ plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.30, n.114, p.89-98, 1979.
- LANG, C.A. Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. **Analytical Chemistry**, Washington, v.30, n.10, p.1692-1692, 1958.
- LICHTENTHALER, H.K., RINDERLE, U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. **CRC Critical Reviews Analytical Chemistry**, Boca Raton, v.19, p.39-85, 1988. Suppl. 1.
- LINS I.D.G., COX, F.R., NICHOLAIDES, J.J. Optimizing phosphorus fertilization rates of soybean grown on soils associated entisoils. **American Journal of Soil Science Society**, v.49, p.1457-1460, 1985.

- LONGSTRETH, D.J., NOBEL, P.S. Nutrient influences on leaf photosynthesis. Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium for *Gossypium hirsutum* L. **Plant Physiology**, Rockville, v.65, n.3, p.541-543, 1980.
- LOPEZ-CANTARERO, I., LORENTE, F.A., ROMERO, L. Are chlorophylls good indicators of nitrogen and phosphorus levels? **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.17, n.6, p.979-990, 1994.
- LOUGHAMAN, B.C., RATCLIFFE, R.G., SOUTHON, T.E. Observations on the cytoplasmic and vacuolar orthophosphate pools in leaf tissues using in vivo ³¹P-NMR spectroscopy. **Federation of European Biological Societies Letters**, Amsterdam, v.242, n.2, p.279-284, 1989.
- LYNCH, J.H., RODRIGUEZ, N.S. Photosynthetic nitrogen-use efficiency in relation to leaf longevity in common bean. **Crop Science**, Madison, v.34, n.5, p.1284-1290, 1994.
- MAKINO, A., MAE, T., OHIRA, K. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and leaf conductance. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.25, n.3, p.511-521, 1984.
- MAKINO, A., NAKANO, H., MAE, T. Responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, cytochrome f, and sucrose synthesis enzymes in rice leaves of leaf nitrogen and their relationships to photosynthesis. **Plant Physiology**, Rockville, v.105, n.1, p.173-179, 1994.
- MAKINO, A., OSMOND, B. Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. **Plant Physiology**, Rockville, v.96, n.2, p.355-362, 1991.
- MARTINEZ, H.E.P., NOVAIS, R.F., SACRAMENTO, L.V.S. Comportamento de variedades de soja sob diferentes níveis de fósforo: I. Cinética de absorção de fósforo absorvido e ajustes morfológicos da planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.17, n.2, p.231-238, 1993a.
- MARTINEZ, H.E.P., NOVAIS, R.F., RODRIGUES, L.A. et al. Reactions of three soybean cultivars to interruptions in phosphorus supply. In: FRAGOSO, M.A.C., VAN BEUSICHEM, M.L. (Ed.). **Optimization of Plant Nutrition**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1993b. p.547-554.
- NAGANO, M., ASHIHARA, H. Long-term phosphate starvation and respiratory metabolism in suspension-cultured *Catharanthus roseus* cells. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.34, n.8, p.1219-1228, 1993.

- NELSON, D.R., BELLVILLE, R.J., PORTER, C.A. Role of nitrogen assimilation in seed development of soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v.74, n.1, p.128-133, 1984.
- ONO, K., TERASHIMA, I., WATANABE, A. Interaction between nitrogen deficit of a plant and nitrogen content in the old leaves. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.37, n.8, p.1083-1089, 1996.
- PAUL, M.J., DRISCOLL, S.P. Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signalling nitrogen deficiency through source: sink imbalance. **Plant, Cell and Environment**, Tokyo, v.20, n.1, p.110-116, 1997.
- PATE, J.S. Root-exsudation studies on the exchange of C¹⁴-labelled organic substances between the roots and shoots of the nodulated legume. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.17, n.3, p.333-356, 1962.
- PEÑUELAS, J., BIEL, C., ESTIARTE, M. Changes in biomass, chlorophyll content and gas exchange of beans and peppers under nitrogen and water stress. **Photosynthetica**, Prague, v.29, n.4, p.535-542, 1993.
- PEREIRA, P.R.G. **Estudo da eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares para soja em amostra de latossolo**. Viçosa, MG: UFV, 1992. 72p. Dissertação (Mestrado Solos e Nutrição Mineral de Plantas). Universidade Federal de Viçosa, 1992.
- PEOPLES, M.B., FAIZAH, A.W., REKASEM, B. et al. **Methods for evaluating nitrogen fixation legumes in the field**. Canberra: Australian Centre for International Agriculture Research, 1989. 75p. (Monograph n. 11).
- PLESNICAR, M., KASTORI, R., PETROVIC, N. et al. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves as affected by phosphorus nutrition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.45, n.276, p.919-924. 1994.
- QIU, J., ISRAEL, D.W. Diurnal starch accumulation and utilization in phosphorus-deficient soybean plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.98, n.1, p.316-3323, 1992.
- RADIN, W.J., ACKERSON, R.C. Water relations of cotton plants under nitrogen deficiency. III. Stomatal conductance, photosynthesis, and abscisic acid accumulation during drought. **Plant Physiology**, Rockville, v.67, n.1, p.115-119, 1981.
- RADIN, J.W., EIDENBOCK, M.P. Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.75, n.2, p.372-377, 1984.

- RADIN, J.W., EIDENBOCK, M.P. Carbon accumulation during photosynthesis in leaves of nitrogen- and phosphorus-stressed cotton. **Plant Physiology**, Rockville, v.82, n.3, p.869-871, 1986.
- RAO, I.M., ABADIA, J., TERRY, N. Leaf phosphate status and photosynthesis in vivo: changes in light scattering and chlorophyll fluorescence during photosynthetic induction in sugar beet leaves. **Plant Science**, Amsterdam, v.44, n.2, p.133-137, 1986.
- RAO, I. M., ARULANANTHAM, A.R., TERRY, N. Leaf phosphate status, photosynthesis and carbon partitioning in sugar beet: II. Diurnal changes in sugar phosphates, adenylates and nicotinamide nucleotides. **Plant Physiology**, Rockville, v.90, n.3, p.820-826, 1989.
- RAO, I.M., FREDEEN, A.L., TERRY, N. Leaf phosphate status, photosynthesis, and carbon partitioning in sugar beet. III. Diurnal changes in carbon partitioning and carbon export. **Plant Physiology**, Rockville, v.92, n.1, p.29-36, 1990.
- RAO, I.M., TERRY, N. Leaf phosphate status, photosynthesis and carbon partitioning in sugar beet: I. Changes in growth, gas exchange, and Calvin cycle enzymes. **Plant Physiology**, Rockville, v.90, n.3, p.814-819, 1989.
- RAO, I.M., TERRY, N. Leaf phosphate status and photosynthesis in vivo: Changes in sugar phosphates, adenylates and nicotinamide nucleotides during photosynthetic induction in sugar beet. **Photosynthetica**, Prague, v.2, n.2, p.243-254, 1994.
- RIVIERE-ROLLAND, H., CONTARD, P., BETSCHE, T. Adaptation of pea to elevated atmospheric CO₂: rubisco, phosphoenolpyruvate carboxylase and chloroplast phosphate translocator at different levels of nitrogen and phosphorus nutrition. **Plant, Cell and Environment**, Tokyo, v. 19, n.1, p.109-117, 1996.
- ROBINSON, J.M. Leaflet photosynthesis rate and carbon metabolite accumulation patterns in nitrogen-limited, vegetative soybean plants. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v.50, n.2, p.133-148, 1996.
- ROBINSON, S.P., WALKER, D.A. Photosynthetic carbon reduction cycle. In: STUMPF, P.K., CONN, E. (Ed.). **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise**. New York: Academic Press, 1981. p. 193-236.
- ROSOLEM, C.A., MARUBAYASHI, O.M. Seja o doutor do seu feijoeiro. **Informações Agronômicas - Arquivo do Agrônomo**, n.68, p.1-16, 1994.
- RUFTY JR., T.W., MACKOWN, C.T., VOLK, R.J. Effects of altered carbohydrate availability on whole-plant assimilation of ¹⁵NO₃⁻¹. **Plant Physiology**, Rockville, v.89, n.2, p.457-463, 1989.

- RUFTY JR., T.W., MACKOWN, C.T., ISRAEL, D.W. Phosphorus stress effects on assimilation of nitrate. **Plant Physiology**, Rockville, v.94, n.1, p.328-333, 1990.
- RUFTY JR., T.W., SIDDIQI, M.Y., GLASS, A.D.M. et al. Alteration $^{15}\text{NO}_3^{-1}$ influx in phosphorus limited plants. **Plant Science**, Amsterdam, v.76, p.43-48, 1991.
- RUFTY JR., T.W., ISRAEL, D.W., VOLK, R.J. et al. Phosphate regulation of nitrate assimilation in soybean. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.44, p.879-891, 1993.
- SA, T-M, ISRAEL, W.I. Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules. **Plant Physiology**, Rockville, v.97, n.3, p.928-935, 1991.
- SA, T-M, ISRAEL, W.I. Nitrogen assimilation in nitrogen-fixing soybean plants during phosphorus deficiency. **Crop Science**, Madison, v.35, n.3, p.814-820, 1995.
- SAGE, R.F., PEARCY, R.W., SEEMANN, J.R. The nitrogen use efficiency of C_3 and C_4 plants. I. Leaf nitrogen, growth and biomass partitioning in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). **Plant Physiology**, Rockville, v.84, n.3, p.954-958, 1987a.
- SAGE, R.F., PEARCY, R.W., SEEMANN, J.R. The nitrogen use efficiency of C_3 and C_4 plants. II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). **Plant Physiology**, Rockville, v.84, n.3, p.959-963, 1987b.
- SAGE, R.F., PEARCY, R.W., SEEMANN, J.R. The nitrogen use efficiency of C_3 and C_4 plants. III. Leaf nitrogen effects on the activity of carboxylating enzymes in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). **Plant Physiology**, Rockville, v.85, n.2, p.355-359, 1987c.
- SALISBURY, F.B., ROSS, C.W. **Plant Physiology**. 4.ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682p.
- SAWADA, S., ENOMOTO, S., TOZU, T. et al. Regulation of the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in response to changes in the photosynthetic source-sink balance in intact soybean leaves. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.36, n.4, p.551-556, 1995.
- SCHÄFER, C. HEIM, R. Nitrogen deficiency exacerbates the effects of light stress in photoautotrophic suspension cultured cells of *Chenopodium rubrum*. **Photosynthetica**, Prague, v.27, n.4, p.545-561, 1992.

- SMILLE, R.M., KROTKOV, G. The estimation of nucleic acids in some algae and higher plants. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.38, n.1, p.31-49, 1960.
- SMILLIE, R.M., HETHERINGTON, S.E. Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. Chilling, freezing, ice-cover, heat, and high light. **Plant Physiology**, Rockville, v.72, n.4, p.1043-1050, 1983.
- SOMERSALO, S., KRAUSE, G.H. Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold acclimated spinach leaves in the field. A fluorescence study. **Plant Physiology**, Rockville, v.79, p.617-622, 1990.
- SOUZA, J.F., SFOGGIA, H.C., MODEL, N.S. Qualidade e tecnologia das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas na região de Sobradinho-RS na safra 1990/91. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.1, n.1, p.32-43, 1995.
- STREETER, J.G. Allantoin and allantoic acid in tissue and stem exudate from field-grown soybean plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.63, n.3, p. 478-480, 1979.
- TAN, W., HOGAN, G.D. Limitations to net photosynthesis as affected by nitrogen status in jack-pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.46, n.285, p.407-413, 1995.
- TERASHIMA, I., EVANS, R.J. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.29, n.1, p.143-155, 1988.
- THOMAS, H., STODDAT, J.L. Leaf senescence. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.21, p.83-111 1980.
- USUDA, H. Phosphate deficiency in maize. V. Mobilization of nitrogen and phosphorus within shoots of young plants and its relationship to senescence. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.36, n.6, p.1041-1049, 1995.
- USUDA, H., EDWARDS, G.E. Influence of varying CO₂ and orthophosphate concentrations on rates of photosynthesis, and synthesis of glycolate and dihydroxyacetone phosphate by wheat chloroplasts. **Plant Physiology**, Rockville, v.69, n.2, p.469-473, 1982.
- USUDA, H., SHIMOGAWARA, K. Phosphate deficiency in maize. I. Leaf phosphate status, growth, photosynthesis and carbon partitioning. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.32, n.4, p.497-504, 1991a.
- USUDA, H., SHIMOGAWARA, K. Phosphate deficiency in maize. II. Enzyme

- activities. **Plant & Cell Physiology**, Kyoto, v.32, n.8, p.1313-1317, 1991b.
- USUDA, H, SHIMOGAWARA, K. Phosphate deficiency in maize. III. Changes in enzyme activities during course of phosphate deprivation. **Plant Physiology**, Rockville, v.99, n.4, p.1680-1685, 1992.
- VERNOTTE, C., ETIENNE, A.L., BRIANTAIS, J.M. Quenching of the system II chlorophyll fluorescence by the plastoquinone pool. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.545, p.519-527, 1979.
- VOGELS, D.G., VAN DER DRIFT, C. Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, New York, v.33, p.143-157, 1970.
- WALKER, D.A. **The use of the oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis**. Sheffield: Oxgraphics, 1987. p121-126.
- WAREMBOURG, F.R., FERNANDES, M.P. Distribution and remobilization of symbiotically fixed nitrogen in soybean (*Glicine max*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.65, n.3, p. 281-286, 1985.
- WILSON, J.B. A review of evidence on the control of shoot:root ratio in relation to models. **Annals of Botany**, London, v.61, n.4, p.433-449, 1988.
- WONG, S-C., COWAN, I.R., FARQUHAR, G.D. Leaf conductance in relation to rate of CO₂ assimilation. I. Influence of nitrogen nutrition, phosphate nutrition, photon flux density and ambient partial pressure of CO₂ during ontogeny. **Plant Physiology**, Rockville, v.78, n.4, p.821-825, 1985.
- WOODROW, I.E., BERRY, J.A. Enzymatic regulation of photosynthetic CO₂ fixation in C₃ plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, p.533-594, 1988.
- YAHIYA, M., SAMIULLAH, FATMA, A. Influence of phosphorus on nitrogen fixation in chickpea cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.18, n.4, p.719-727, 1995.
- YEMM, D.G., COCKING, E.C. Estimation of amino acids by ninhydrin. **The Analyst**, London, v.80, p.203-213, 1955.

APÊNDICE

Quadro 1A - Resumo da análise de variância do número de folhas por planta (NF), da área foliar por planta (AF), da área foliar específica total (AFEt) e da área foliar específica, determinada em disco foliar (AFEd), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM			
		NF	AF	AFEt	AFEd
N	1	378,4500**	0,1102**	3,7770 x 10 ⁻⁵ ns	4,6355 x 10 ⁻⁵ **
P	1	344,4500**	0,0928**	8,5087 x 10 ⁻⁵ ns	1,2283 x 10 ⁻⁴ **
N x P	1	266,4500**	0,0924**	6,1585 x 10 ⁻⁵ ns	3,1277 x 10 ⁻⁵ **
N/adeq P	1	640,0000**	0,2022**		1,5072 x 10 ⁻⁵ *
N/defic P	1	4,9000 ^{ns}	0,0004 ^{ns}		1,3904 x 10 ⁻⁴ **
P/adeq N	1	608,4000**	0,1852**		7,6893 x 10 ⁻⁵ **
P/defic N	1	2,5000 ^{ns}	0,0002 x 10 ⁻³ ns		7,3910 x 10 ⁻⁵ ns
Resíduo	16	3,0250	0,0006	4,0029 x 10 ⁻⁵	2,3708 x 10 ⁻⁶
CV (%)		13,13	14,78	6,33	3,61

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 2A - Resumo da análise de variância da massa seca dos folíolos (MSF), dos pecíolos (MSP), dos caules (MSC), da raiz (MSR) e do total da planta (MST), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM				
		MSF	MSP	MSC	MSR	MST
N	1	61,6005**	3,1205**	7,8445**	1,5125 ^{ns}	180,0000**
P	1	51,5205**	1,9845**	4,5113**	0,4205 ^{ns}	102,1520**
N x P	1	51,5205**	1,4045**	5,9405**	0,0045 ^{ns}	117,1280**
N/adeq P	1	112,8980**	4,3560**	12,9600**		293,7600**
N/defic P	1	0,0250 ^{ns}	0,1690 ^{ns}	0,0250 ^{ns}		3,3640 ^{ns}
P/adeq N	1	103,0400**	3,3640**	10,4040**		180,0000**
P/defic N	1	0,0000 ^{ns}	0,0250 ^{ns}	0,0490 ^{ns}		0,2560 ^{ns}
Resíduo	16	0,5392	0,0318	0,01819999	0,0400	2,1617
CV (%)		21,25	21,60	17,89	21,10	16,59

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 3A - Resumo da análise de variância da relação entre a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz (PAR), do teor de clorofila *a* (Cl *a*), clorofila *b* (Cl *b*), clorofilas totais [Cl (*a*+*b*)] e da razão clorofila *a*/*b* [Cl (*a*/*b*)] no primeiro trifólio completamente expandido, a partir do ápice da planta, em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM				
		PaR	Cl <i>a</i>	Cl <i>b</i>	Cl (<i>a</i> + <i>b</i>)	Cl (<i>a</i> / <i>b</i>)
N	1	11,7315**	0,0626**	0,0033 ^{ns}	0,0946**	0,3723 ^{ns}
P	1	14,4840**	0,0039 ^{ns}	0,00312 ^{ns}	0,0140 ^{ns}	0,1267 ^{ns}
N x P	1	11,8580**	0,0049*	0,0029 ^{ns}	0,0154*	0,0347 ^{ns}
N/adeq P	1	23,5530**	0,0513**		0,0932**	
N/defic P	1	0,0002 ^{ns}	0,0162**		0,0168*	
P/adeq N	1	26,2764**	0,3204 x 10 ⁻⁴ ns		0,1770 x 10 ⁻⁴ ns	
P/defic N	1	0,0656 ^{ns}	0,0087**		0,0294**	
Resíduo	16	0,2778	0,0010	0,0010	0,0032	0,2540
CV (%)		23,52	13,25	32,43	17,07	20,18

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 4A - Resumo da análise de variância dos teores de carotenóides (CAR) no primeiro trifólio, de fósforo inorgânico no primeiro (PiTN) e último (PiTV) trifólios, do nitrogênio total no primeiro (NTN) e último (NTV) trifólios completamente expandido, a partir do ápice da planta, em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM				
		CAR	PiTN	PiTV	NTN	NTV
N	1	0,0293**	0,2557*	0,0659**	270,2103**	115,8143**
P	1	0,0017 ^{ns}	3,2236**	1,9653**	8,3077*	0,2955 ^{ns}
N x P	1	0,3836 x 10 ⁻⁴ ns	0,2391*	0,0812**	24,7329**	0,0162 ^{ns}
N/adeq P	1		0,4947**	0,1467**	65,7215**	
N/defic P	1		0,0001 ^{ns}	0,0004 ^{ns}	229,2217**	
P/adeq N	1		0,8535**	0,6237**	30,8547**	
P/defic N	1		2,6097**	1,4229**	2,1859 ^{ns}	
Resíduo	16	0,0074	0,0486	0,0031	1,2025	0,1716
CV (%)		29,57	40,76	14,12	10,54	9,98

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 5A - Resumo da análise de variância da concentração de aminoácidos (AAX), ureídeos (URX), nitrato (NIX) e fósforo inorgânico no exsudato do xilema (PiX), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM			
		AAX	URX	NIX	PiX
N	1	25,0433 ^{ns}	21,8138*	577,8124**	743,1972**
P	1	1727,442**	118,5280**	78,4864**	1630,2160**
N x P	1	23,2275 ^{ns}	127,0302**	76,4139**	737,0542**
N/adeq P	1		127,0623**	537,2392**	1481,3952**
N/defic P	1		21,4875*	116,9877**	0,0064 ^{ns}
P/adeq N	1		0,0736 ^{ns}	154,8934**	2279,7920**
P/defic N	1		244,4947**	0,0069 ^{ns}	87,4793 ^{ns}
Resíduo	16	465,1263	3,8087	1,4699	6,5939
CV (%)		22,71	19,19	22,32	25,30

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 6A - Resumo da análise de variância da taxa fotossintética líquida (A), da taxa fotossintética líquida máxima (A_{max}) e da razão A_{max}/A , em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM		
		A	A_{max}	A_{max}/A
N	1	131,0720**	458,1159**	0,6610 ^{ns}
P	1	70,9138**	473,9680**	0,6109 ^{ns}
N x P	1	59,1680**	474,3380**	0,0866 ^{ns}
N/adeq P	1	183,1840**	932,3834**	
N/defic P	1	7,0560 ^{ns}	0,0707 ^{ns}	
P/adeq N	1	129,8161**	948,3059**	
P/defic N	1	0,2657 ^{ns}	0,3950 x 10 ⁻⁴ ^{ns}	
Resíduo	16	3,6067	2,7704	0,2694

CV (%)	20,93	18,50	24,52
--------	-------	-------	-------

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 7A - Resumo da análise de variância da fluorescência inicial (F₀), da fluorescência máxima (F_m), da fluorescência variável (F_v) e da razão entre fluorescência variável e fluorescência máxima (F_v/F_m), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM			
		F ₀	F _m	F _v	F _v /F _m
N	1	68.640,8**	2.655.188,0**	3.586.984,0**	0,0454**
P	1	5.148,3 ^{ns}	22.577,6 ^{ns}	48.200,2 ^{ns}	0,0008 ^{ns}
N x P	1	2.930,5 ^{ns}	217.430,5*	268.194,1*	0,0030 ^{ns}
N/P adeq	1		2.196.124,2**	2.908.401,7**	
N/P defic	1		676.494,0**	946.773,6**	
P/N adeq	1		190.068,8 ^{ns}	271.892,0*	
P/N defic	1		49.939,4 ^{ns}	44.499,3 ^{ns}	
Resíduo a	16	2.584,3	46.574,8	56.872,9	0,0007
CV (%)		8,19	7,18	9,99	3,26
E	5	27.659,4**	595.555,6**	661.959,9**	0,0079**
E x N	5	13.235,2**	116.877,7**	172.697,0**	0,0036**
E x P	5	1.790,3 ^{ns}	14.171,1 ^{ns}	21.425,9 ^{ns}	0,0004 ^{ns}
E x N x P	5	1.441,4 ^{ns}	67.760,9 ^{ns}	83.345,9 ^{ns}	0,0011 ^{ns}
Resíduo b	80	2.560,5	35.014,8	36.071,3	0,0006
CV (%)		8,15	6,22	7,96	3,09
E x N	5				
N/E1	1	0,0 ^{ns}	0,0 ^{ns}	0,0 ^{ns}	0,0000 ^{ns}
N/E2	1	19.096,2**	801200,5**	1.067.682,1**	0,0112**
N/E3	1	90.182,5**	711.399,2**	1.313.281,3**	0,0315**
N/E4	1	858,1 ^{ns}	366.934,3**	403.280,8**	0,0027*
N/E5	1	24.360,0**	609.354,3**	877.386,5**	0,0122**
N/E6	1	320,0 ^{ns}	743.051,3**	788.839,4**	0,0058**
Resíduo b'		2.564,4 (96)	36.941,4 (95)	39.538,3 (92)	0,0006 (96)
E/N adeq	(5)	81.620,0**	109.444,8*	114.849,4*	0,0013 ^{ns}
E/N adeq - RL	1	14,6 ^{ns}	302.064,1**	292.994,5**	0,0010 ^{ns}
E/N adeq - RQ	1	2.544,6 ^{ns}	30.227,9 ^{ns}	16.051,8 ^{ns}	0,0195 x 10 ⁻³ ^{ns}
E/N adeq - RC	1	15.779,5*	104.281,7 ^{ns}	37.418,7 ^{ns}	0,0004 ^{ns}
Desvio	2	11.235,8*	55.325,1 ^{ns}	113.891,5**	0,0026*
Resíduo b	80	2.560,5	3.5014,8	36.071,3	0,0006
E/N defic	5	32.732,6**	602.528,7**	719.807,2**	0,0102**
E/N adeq - RL	1	14,6 ^{ns}	302.064,1**	292.994,5**	0,0010 ^{ns}
E/N adeq - RQ	1	2.544,6 ^{ns}	30.227,9 ^{ns}	16.051,8 ^{ns}	0,0136 x 10 ⁻¹ ^{ns}
E/N adeq - RC	1	15.779,5*	104.281,7 ^{ns}	37.418,7 ^{ns}	0,0004 ^{ns}
Desvio	2	11.235,8*	55.325,1 ^{ns}	113.891,5**	0,0026*
Resíduo b	80	2.560,5	35.014,8	36.071,3	0,0006

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 8A - Resumo da análise de variância da taxa transpiratória (T), da condutância estomática (g_s), da concentração subestomática de CO_2 (C_i) e da taxa fotossintética líquida (A), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

FV	GL	QM			
		T	g_s	C_i	A
N	1	0,7825 ^{ns}	0,0853*	25.128,5800**	784,4465**
P	1	0,0460 ^{ns}	0,0112 ^{ns}	3.650,9600 ^{ns}	132,1531**
N x P	1	4,1329**	0,2083**	2.683,7980 ^{ns}	101,8074**
N/adeq P	1	4,2560**	0,2802**		725,7195**
N/defic P	1	0,6594 ^{ns}	0,1912**		160,5243**
P/adeq N	1	2,5256*	0,1581*		232,9722**
P/defic N	1	1,6534*	0,0614*		0,9882 ^{ns}
Resíduo a	16	0,3137	0,0108	1.912,9900	2,6666
CV (%)		22,19	44,42	17,62	13,56
E	5	5,2880**	0,0903**	33.428,4600**	360,7666**
E x N	5	0,5951*	0,0486**	2.652,5840 ^{ns}	32,9842**
E x P	5	0,0576 ^{ns}	0,0116 ^{ns}	642,0326 ^{ns}	14,2678**
E x N x P	5	0,6800*	0,0230 ^{ns}	1.205,7680 ^{ns}	12,9618**
Resíduo b	80	0,2296	0,0108	1.522,0800	2,9553
CV (%)		18,98	33,75	15,72	14,28
E x N	(5)				
N/E1	1	0,0000 ^{ns}	0,0000 ^{ns}		
N/E2	1	0,7960 ^{ns}	0,1496**		
N/E3	1	0,3026 ^{ns}	0,0162 ^{ns}		
N/E4	1	0,0026 ^{ns}	0,0051 ^{ns}		
N/E5	1	2,5848**	0,1584**		
N/E6	1	0,0684 ^{ns}	0,0002 ^{ns}		
Resíduo b'		0,2437 (94)	0,0122 (91)		
E/adeq	(5)	1,7000**	0,0832**		
E/N adeq - RL	1	3,6051**	0,1059**		
E/N adeq - RQ	1	0,7346 ^{ns}	0,0675*		
E/N adeq - RC	1	1,1578 ^{ns}	0,0017 ^{ns}		
Desvio	2	1,5025**	0,1205**		
E/defic	(5)	4,1793**	0,0559**		
E/N defic - RL	1	6,6710**	0,1478**		
E/N defic - RQ	1	0,4969 ^{ns}	0,0134 ^{ns}		
E/N defic - RC	1	0,7991 ^{ns}	0,0015 ^{ns}		
Desvio	2	6,4648**	0,0584**		
Resíduo B	80	0,2296	0,0108		

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.

Quadro 9A - Resumo da análise de variância do desdobramento N x P x E, para taxa fotossintética líquida (A), em razão dos níveis adequado e deficiente de N e P

QM					
A					
FV	GL	fixa N1	fixa N2	fixa P1	fixa P2
E/N adeq	(5)			20,5380**	101,4182**
E/N adeq - RL	1	-	-	48,6826**	480,4470**
E/N adeq - RQ	1	-	-	21,9200**	17,2551*
E/N adeq - RC	1	-	-	26,7328**	1,2387 ^{ns}
Desvio	2	-	-	2,6775 ^{ns}	4,0753 ^{ns}
Resíduo B	80	-	-	2,9553	2,9553
E/N defic	5			144,1117**	154,9124**
E/N defic - RL	1	-	-	493,8665**	541,9035**
E/N defic - RQ	1	-	-	191,4429**	172,6080*
E/N defic - RC	1	-	-	30,8300**	30,2835**
Desvio	2	-	-	2,2126 ^{ns}	14,8837**
Resíduo B	80	-	-	2,9553	2,9553
N/E1	1			0,0000 ^{ns}	0,0000 ^{ns}
N/E2	1			34,0660**	42,9840**
N/E3	1			65,5390**	9,7200**
N/E4	1			67,2010**	10,6670**
N/E5	1			74,5370**	13,7180**
N/E6	1			63,0110**	2,4270 ^{ns}
Resíduo B'	96			2,9072 ^{ns}	2,9072 ^{ns}
E/P adeq	(5)	20,5381*	144,1117**		
E/P adeq - RL	1	48,6826*	493,8652**		
E/P adeq - RQ	1	21,9200**	191,4429**		
E/P adeq - RC	1	26,7328**	30,8250**		
Desvio	2	2,6775 ^{ns}	2,2126 ^{ns}		
Resíduo B	80	2,9553	2,9553		
E/P defic	(5)	101,4182**	154,9124**		
E/P defic - RL	1	480,4470**	541,9485**	-	
E/P defic - RQ	1	17,2551*	172,5630**	-	
E/P defic - RC	1	1,23870 ^{ns}	30,2835**	-	
Desvio	2	4,0753 ^{ns}	14,8837**	-	
Resíduo B	80	2,9553	2,9553		
P/E1	1	0,0000 ^{ns}	0,0000 ^{ns}		

P/E2	1	0,0073 ^{ns}	1,3032 ^{ns}
P/E3	1	56,0742**	0,9986 ^{ns}
P/E4	1	63,2020**	0,2103 ^{ns}
P/E5	1	113,2323**	4,9985 ^{ns}
P/E6	1	129,8161**	0,2657 ^{ns}
Resíduo B'	96	2,9072 ^{ns}	2,9072 ^{ns}

*, ** e ^{ns} significativos a 5 e 1% de probabilidade e não-significativo, pelo teste F, respectivamente.