

MARLOS ALVES BEZERRA

**TROCAS GASOSAS, FLUORESCÊNCIA E NÍVEIS DE
CARBOIDRATOS EM CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDOS A
DÉFICES HÍDRICO E DE FÓSFORO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2000**

Aos meus pais
Severino e Alzira

À minha família
Luciene, Thales e Thiane

DEDICO

AGRADECIMENTO

A Deus, por ter me dado a vida.

À Universidade Federal de Viçosa 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, apoio e orientação.

Ao professor Fábio Murilo Da Matta, pelas críticas e sugestões.

Aos professores Carlos Alberto Martinez y Huaman, Marcelo Ehlers Loureiro e Raimundo Santos Barros pelas sugestões apresentadas.

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

Ao professor Tuneo Sedyama, pela doação do material vegetal.

Aos funcionários do departamento de Biologia Vegetal, pelo auxílio na realização dos experimentos.

Aos amigos do Curso de Fisiologia Vegetal da UFV, pelas contribuições e alegre convivência.

BIOGRAFIA

MARLOS ALVES BEZERRA, filho de Severino Bezerra Sobrinho e Alzira Alves Bezerra, nasceu em Senador Pompeu - Ceará, no dia 26 de setembro de 1967.

Ingressou no Curso de Engenharia Agrônômica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará no segundo semestre de 1988, tendo concluído o mesmo em dezembro de 1993.

Em março de 1994, iniciou o Curso de Pós-Graduação a nível de mestrado em Agronomia - Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em agosto de 1996.

Em outubro de 1996 ingressou no Curso de Doutorado de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - Minas Gerais, defendendo tese em novembro de 2000.

CONTEÚDO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1- FOTOSSÍNTESE E PARTIÇÃO PRIMÁRIA DO CARBONO EM PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIAS HÍDRICA E DE FÓSFORO	4
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
2.1. Material vegetal e condições de cultivo	8
2.2. Tratamentos.....	9
2.3. Determinação do potencial hídrico	9
2.4. Determinações das trocas gasosas.....	10
2.5. Conteúdo de clorofilas	10
2.6. Frações de fósforo	11

2.7. Proteínas solúveis totais	11
2.8. Concentrações de carboidratos.....	11
2.9. Atividade da pirofosforilase do ADPG (ADPGase)	12
2.10. Massa seca da parte aérea	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
3.1 Efeito das deficiências de fósforo e de água nos parâmetros de intercâmbio do carbono	14
3.2 Efeito das deficiências de fósforo e de água nos teores dos pigmentos foliares, fósforo inorgânico e proteínas solúveis totais...	19
3.3 Efeito das deficiências de fósforo e de água na partição do carbono fotoassimilado e massa seca das plantas.....	21
3.4 Efeito do restabelecimento da hidratação nos parâmetros de intercâmbio de carbono.....	37
3.5 Efeito do restabelecimento da hidratação nos teores dos pigmentos foliares, fósforo inorgânico e proteínas solúveis totais	37
3.6. Efeito do restabelecimento da hidratação na partição do carbono fotoassimilado e massa seca das plantas.....	40
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	42
CAPÍTULO 2 - FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIAS HÍDRICA E DE FÓSFORO	45
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1. Material vegetal e condições de cultivo	48
2.2. Tratamentos.....	48
2.3. Determinação do potencial hídrico	48
2.4. Medidas de fotossíntese e fluorescência da clorofila.....	48
2.5. Frações de fósforo	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50

3.1 Efeito das deficiências de fósforo e de água na taxa fotossintética líquida.....	50
3.2 Efeito das deficiências de fósforo e de água na eficiência quântica do fotossistema II	54
3.3 Efeito das deficiências de fósforo e de água na dissipação não-fotoquímica da energia radiante	57
3.4 Efeito do restabelecimento da hidratação na taxa fotossintética líquida e na eficiência quântica do fotossistema II.....	67
3.5 Efeito do restabelecimento da hidratação na dissipação não-fotoquímica da energia radiante	69
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	72
RESUMOS E CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

LISTA DE ABREVIATURAS

Símbolo	Descrição
$(1 - F_v'/F_m')$	coeficiente de dissipação térmica da energia radiante
$(1 - qP)$	estádio de redução de Q_A
ϕ_{FSII}	eficiência quântica do FSII
Ψ_w	potencial hídrico
3-PGA	ácido 3-fosfoglicérico
A	assimilação líquida de CO_2
ADPGase	enzima pirofosforilase do adenosina difosfoglicose (ADPG)
ANR	açúcares não-redutores
AR	açúcares redutores
AST	açúcares solúveis totais
C_a	concentração externa de CO_2
C_i	concentração interna de CO_2
CNE	carboidratos não-estruturais

E	taxa transpiratória
EUA	eficiência do uso da água
F_0	fluorescência inicial
F_0'	fluorescência inicial adaptada à luz
F_m	fluorescência máxima
F_m'	fluorescência máxima adaptada à luz
F_s	fluorescência constante
FSII	fotossistema II
F_v	fluorescência variável
F_v/F_m	eficiência fotoquímica intrínseca do FSII
F_v/F_m'	eficiência fotoquímica dos fotossistemas abertos
g_s	condutância estomática
H_C	tratamento em que as plantas não sofreram <i>deficit</i> hídrico - controle
H_E	tratamento em que as plantas sofreram <i>deficit</i> hídrico
LHCII	complexo coletor de luz do FSII
NPQ	coeficiente de dissipação não-fotoquímica alternativo
P_{680}	centro de reação do FSII
P_C	tratamento com 250 mg P dm ⁻³
P_E	tratamento com 25 mg P dm ⁻³
Pi	fósforo inorgânico
PPi	Pirofosfato
PST	proteínas solúveis totais
Q_A	quinonas do tipo A
qE	coeficiente de dissipação dependente de um gradiente de pH no tilacóide (dependente de energia)
qI	coeficiente de dissipação em função de fotoinibição

	(degradação de D1)
qNP	coeficiente de dissipação não-fotoquímica
qP	coeficiente de dissipação fotoquímica
qT	coeficiente de dissipação devido fosforilação do FSII
R3	estádio de desenvolvimento apresentando vagens de até 5,0 mm de comprimento em um dos quatro últimos nós superiores da haste principal, com folha completamente desenvolvida
SPS	enzima sintase da sacarose fosfato
V1	estádio de desenvolvimento em que as folhas unifolioladas estão completamente abertas
V7	estádio de desenvolvimento em que as folhas estão completamente desenvolvidas no 7 ^o nó acima do nó das folhas unifolioladas

RESUMO

BEZERRA, Marlos Alves, D.S., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2000. **Trocas gasosas, fluorescência e níveis de carboidratos em cultivares de soja submetidos a défices hídrico e de fósforo.** Orientador: Paulo Roberto Mosquim. Conselheiros: Carlos Alberto Martínez y Huamán e Fábio Murilo Da Matta.

Plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foram cultivadas em casa de vegetação, em substrato de solo e areia. Os experimentos foram em fatorial 2 x 2 x 2. O primeiro nível refere-se aos cultivares utilizados (UFV-18 e Doko RC), o segundo à concentração de P (25 mg e 250 mg P dm⁻³ de substrato) e o terceiro, o estado hídrico da planta (plantas mantidas permanentemente irrigadas e plantas submetidas a *déficit* hídrico quando as vagens começaram a ser formadas - R3). Um grupo de plantas foi utilizado para a avaliação do efeito do *déficit* hídrico e um outro grupo para avaliação dos efeitos do ressuprimento de água. Verificou-se redução da taxa fotossintética líquida sob condições de *deficit* de água. A deficiência hídrica não alterou a eficiência quântica do fotossistema II, medido pelas razões Fv/Fm, Fv'/Fm' e ϕ FSII, e nem a dissipação não-fotoquímica (qNP), exceto quando em interação com a deficiência de fósforo. Em função do *déficit*

hídrico, ocorreram diminuição na condutância estomática e na taxa transpiratória. O teor de amido foliar foi reduzido e a atividade da pirofosforilase do ADPG não foi alterada, enquanto os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais foram aumentados em função da deficiência hídrica. A massa seca das folhas e da parte aérea das plantas só sofreu redução nas plantas do cultivar Doko RC cultivadas no nível mais alto de fósforo. Sob deficiência de fósforo, a queda da taxa fotossintética líquida foi acompanhada por redução na eficiência quântica fotoquímica e por aumento na dissipação não-fotoquímica da energia radiante. Grande parte dessa dissipação não-fotoquímica foi na forma de calor. O efeito da deficiência de fósforo na condutância estomática foi ambivalente, a razão C_i/C_a aumentou, enquanto o teor de Pi foliar foi drasticamente reduzido e os teores de clorofilas sofreram redução apenas no cultivar Doko RC. Sob *déficit* de fósforo, os teores de amido foliar e a atividade da pirofosforilase do ADPG foram aumentados e, de maneira geral, os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais não foram alterados. Ocorreram ainda, reduções acentuadas da massa seca das folhas e da parte aérea das plantas. A reirrigação praticamente não afetou os mecanismos dissipativos da energia não-fotoquímicos. Após a reirrigação, houve recuperação da taxa fotossintética líquida, da condutância estomática, da taxa transpiratória e da relação C_i/C_a , com valores iguais aos das plantas-controle. Também, os teores de todos os açúcares analisados foram semelhantes após a reirrigação, com exceção das plantas que sofreram deficiências combinadas.

ABSTRACT

BEZERRA, Marlos Alves, D.S., Universidade Federal de Viçosa, November 2000
Gaseous exchange, fluorescence and carbohydrate levels in soybean cultivars submitted to water and phosphorus deficits. Adviser: Prof. Paulo Roberto Mosquim. Advisory Committee: Profs. Fábio Murilo Da Matta and Carlos Alberto Martinez y Huamán.

Soybeans plants, *Glycine max* (L.) Merrill. were grown in greenhouse conditions, in a soil and sand substratum. Experiments were conducted in a factorial 2 x 2 x 2 design, referring to two cultivars (UFV-18 and Doko RC) two P levels (25mg and 250 mg P dm⁻³ substratum) and to plant water status (plant permanently irrigated and submitted to a water deficit when pods were initiated – R3). **A** group of plants was employed as for evaluation of the effects of the water deficit and another one for evaluation as for the effect of the water resupply. **A** decrease in the rate of net photosynthesis under conditions of water deficit was observed. The water deficit did

not affect either the quantum efficiency of photosystem II or the non-photochemical dissipation of the absorbed energy (qNP), except when in co-action with a P deficiency. A decrease in stomatal conductance and transpiration rate as related to water deficit was also observed. Starch levels in leaves were decreased, ADPG pyrophosphorilase activity was not altered and reducing, non-reducing and total soluble sugars were increased in relation to water deficits. Leaf and shoot dry matter was decreased only in plants of cv Doko RC grown under higher P levels. Under a P deficiency, the fall in rate of net photosynthesis was accompanied by a reduction in photochemical quantum efficiency and by an increase in the non-photochemical dissipation of energy. A large part of this non-photochemical dissipation occurred in heat form. The effect of P deficiency on stomatal conductance did not show any consistent pattern, the C_i/C_a ratio increased, whilst the levels of leaf P_i were drastically reduced and chlorophyll contents were decreased only in cv Doko RC. Under a P deficit, leaf starch and ADPG pyrophosphorilase activity were increased and, in a general way, the levels of not-reducing, reducing and total soluble sugars were not affected. Accentuated reductions in leaf and shoot dry matter were observed. Re-irrigation practically did not affect the dissipating mechanisms of non-photochemical energy. Following re-irrigation recoveries in the rate of net photosynthesis, stomatal conductance, transpiration rates and in the C_i/C_a ratio to the extent of control values occurred. Also, the contents of all sugars showed similar to controls following re-irrigation, except for the plants suffering a combined water and P deficiency.

INTRODUÇÃO

Um fator determinante na produção vegetal, em regiões áridas ou semi-áridas, é a perda da umidade dos solos, com conseqüente diminuição da disponibilidade de nutrientes, especialmente fósforo (Al-karaki et al., 1995). Os efeitos de estresses ambientes são geralmente traduzidos em redução na fotossíntese e no crescimento das plantas, estando, ainda, associados com alterações no metabolismo do carbono e do nitrogênio (Iturbe-Ormaetxe et al., 1998). As mudanças adaptativas das plantas a esses estresses podem ocorrer em quatro níveis: fenológica ou de desenvolvimento, morfológica, fisiológica e metabólica (Hanson e Hitz, 1982).

Dentre as regiões com problemas de estresses ambientes, pode-se destacar o cerrado brasileiro, que apresenta solos fortemente intemperizados, contendo elevados teores de óxidos de ferro, alumínio e manganês. São, ainda, quase sempre ácidos e com baixos teores de fósforo disponível (Verdade, 1971). Portanto, o fósforo destaca-se como um dos nutrientes que limita a produção de soja em solos sob vegetação de cerrados. Além disso, é comum nesta região a

ocorrência de veranicos (Cochrane et al, 1988), que concorrem para uma redução na produtividade da cultura.

A produção da soja é pouco afetada pelo estresse hídrico durante o estágio de crescimento vegetativo, diminui quando da floração e frutificação e é fortemente reduzida quando o *deficit* hídrico ocorre durante o enchimento dos frutos (Eck et al, 1987). A redução máxima na produção, em decorrência do *deficit* hídrico, ocorre quando as plantas são estressadas durante a última semana de desenvolvimento da vagem e durante o enchimento dos grãos (Eck et al, 1987; Ferris et al., 1998). Para Doss et al (1974) o período de enchimento das vagens seria o mais crítico com relação ao estresse hídrico.

No que concerne ao *deficit* de fósforo, reduções na área foliar e peso da matéria seca da parte aérea, foram observadas em feijão e sorgo por Al-karaki et al. (1995) e em soja por Fredeen et al. (1989). Deficiência de fósforo também provocou redução na produção de biomassa de trigo (Rodriguez et al., 1996). Em plantas de soja cultivadas em baixo nível de fósforo no solo, Crafts-Brandner (1992) encontrou redução da matéria seca de sementes por planta, independentemente se as mesmas fossem colhidas no final do desenvolvimento dos grãos (R6), no início ou no final da maturação dos grãos (estádios R7 e R8, respectivamente) (classificação de Fehr e Caviness, 1977). Gutierrez-Boem e Thomas (1998) submeteram plantas de soja a *deficits* hídrico e de fósforo e verificaram que a deficiência hídrica reduziu o crescimento das plantas apenas sob *deficit* simultâneo de fósforo. Esses autores sugeriram, então, que a adubação fosfatada aumentaria a tolerância das plantas a deficiência hídrica.

A fotossíntese, processo responsável pela fixação do carbono, pode ser reduzida pelo *deficit* hídrico. Essa redução da fotossíntese reflete as mudanças ocorridas na condutância estomática e na capacidade fotossintética do mesófilo (von Caemmerer e Farquhar, 1981). Entretanto, o fator preponderante na redução da fotossíntese sob condições de *deficit* hídrico tem sido objeto de discussão. Enquanto alguns pesquisadores preconizam a limitação estomática (fechamento estomático) como maior responsável, outros apontam as mudanças no

metabolismo como causa principal do declínio da fotossíntese. Alteração no metabolismo e partição dos carboidratos, aumento no nível de solutos na folha, diminuição no nível da ribulose-1,5-bisfosfato e menor síntese de rubisco são apresentados como alguns dos fatores responsáveis pela limitação não-estomática da fotossíntese, sob condições de *deficit* hídrico. Hoje, a maioria dos autores sugerem que a abertura estomática é o fator que mais influencia a fotossíntese nos estádios iniciais do *deficit* hídrico (estresse moderado) e que a inibição bioquímica desenvolve-se em condições de deficiência mais severa.

Em resposta ao conjunto de mudanças provocadas pelo *deficit* hídrico, podem ocorrer numerosas alterações na interação fonte-dreno. Por exemplo, Barlow et al (1976) observaram um aumento de 42% no conteúdo de carboidratos solúveis de plantas de milho expostas a estresse hídrico. O *deficit* hídrico pode induzir aumento nos conteúdos de sacarose, glicose e frutose. Entretanto, em muitos casos, somente sacarose ou somente hexoses aumentam (Pelleschi et al, 1997). Huber et al (1984) encontraram alterações nas taxas de exportação e no padrão de partição de assimilados em plantas de soja submetidas a diferentes regimes hídricos.

O decréscimo na taxa fotossintética de plantas sob deficiência de fósforo, conforme verificado em soja por Qiu e Israel (1992, 1994), por Dietz e Foyer (1986) e em milho por Usuda e Shimogawara (1991) pode estar associado à diminuição da condutância estomática, a aumento na resistência do mesófilo, a diminuição na atividade da rubisco, bem como, decréscimo na regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato e na síntese de ATP (Dietz e Foyer, 1986; Brooks et al, 1988; Rao e Terry, 1989). A concentração de Pi pode afetar, ainda, a atividade de outras enzimas do ciclo de Calvin, tais como a cinase da ribulose-5-fosfato, fosfatase da frutose-1,6-bisfosfato (FBPase) e fosfatase da sedo-heptulose-1,7-bisfosfato (SBPase).

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar os efeitos das deficiências de água e fósforo, isoladas ou simultaneamente, sobre a fotossíntese e a partição do carbono em plantas de soja *Glycine max* (L.) Merrill.

CAPÍTULO 1

FOTOSSÍNTESE E PARTIÇÃO PRIMÁRIA DO CARBONO EM PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIAS HÍDRICA E DE FÓSFORO

1. INTRODUÇÃO

A baixa disponibilidade de água no solo afeta direta e indiretamente a taxa fotossintética das plantas. Essa redução pode ser devido ao fechamento estomático que, por sua vez, reduz a disponibilidade de CO₂ dentro das células mesofílicas, diminuindo a capacidade de fixação do CO₂ ou, ainda, pode estar associada a limitações não-estomáticas, como: (1) aumento na resistência à difusão de CO₂ na fase líquida, entre a câmara sub-estomática e os sítios de carboxilação e, (2) decréscimo na atividade fotoquímica dos tilacóides e nas reações bioquímicas do estroma (KANECHI et al., 1996). Em adição, dependendo do estágio de desenvolvimento da planta, sob condições de *deficit* hídrico, a menor produção de fotoassimilados deve ser utilizada em dois

processos mutuamente exclusivos: ajustamento osmótico na própria folha e exportação de assimilados para os demais órgãos da planta.

Tanto nas plantas C_3 (KAISER, 1987), quanto nas C_4 (SACCARDY et al., 1996), em condições de restrição do fornecimento de água, o fechamento estomático parece ser a principal causa da redução da taxa fotossintética. Aparentemente, não existe inibição das reações fotoquímicas ou alterações no estoque de intermediários do ciclo reutivo fotossintético do carbono, dentro de uma mudança de até 30% do volume do protoplasto (CHAVES, 1991; GIARDI et al., 1997; PELLESCI et al., 1997). Por outro lado, GIMENEZ et al. (1992) e TEZARA et al. (1999) concluíram que, em girassol, embora qNP tenha aumentado, a inibição da fotossíntese pelo estresse hídrico não fora resultado da diminuição da difusão de CO_2 , da produção de O_2 ou da redução no transporte de elétrons, mas da inibição do ciclo de Calvin, devido ao decréscimo na síntese de ATP. KICHEVA et al. (1994) atribuíram a redução da assimilação do CO_2 ao fechamento estomático (maior parte), e aos efeitos diretos da desidratação sobre as reações bioquímicas da fotossíntese. Semelhantemente, LAURIANO et al. (1997) observaram, em amendoim, que o *deficit* hídrico reduziu a fotossíntese mesmo em condições saturantes de CO_2 , sugerindo um efeito de natureza não-estomática.

Na grande maioria dos trabalhos, a limitação não-estomática é preconizada pelo aumento na concentração interna de CO_2 (C_i) concomitantemente com o decréscimo na fotossíntese. No entanto, a obtenção do valor real de C_i a baixo potencial hídrico torna-se muito difícil devido ao fechamento desuniforme dos estômatos e ao aumento da transpiração cuticular (CORNIC, 2000). Em virtude dessas peculiaridades, CHEN et al. (1993) postularam que os resultados e conclusões contrastantes acerca dos efeitos do *deficit* hídrico na fotossíntese devem-se a dificuldades experimentais, bem como à magnitude do *deficit* hídrico e à maneira de como ele é imposto.

Em virtude da baixa disponibilidade de água no solo, ocorre aumento dos espaços entre as partículas do solo preenchidos com ar, diminuindo a mobilidade

dos íons. Por isto, a deficiência hídrica pode reduzir o crescimento da planta diretamente ou em conjunção com a diminuição na disponibilidade de nutrientes (RODRIGUEZ et al., 1996). No caso do fósforo, a menor disponibilidade é provocada pela menor taxa de difusão para as raízes e por mudanças nas relações hídricas da planta (AL-KARAKI, 1995).

A disponibilidade de fósforo pode restringir a taxa fotossintética máxima, mesmo sob condições de luz e CO₂ saturantes (GUIDI et al., 1994). FURBANK et al. (1987) identificaram que a queda da fotossíntese sob deficiência de fósforo depende do seu efeito sobre o sistema de transporte de elétrons, da sua inibição via aumento no gradiente de pH ou no potencial redox dos tilacóides e da inibição enzimática de muitos pontos do ciclo de Calvin. BROOKS (1986) propôs que a essencialidade do fósforo na fotossíntese decorre do fato de o mesmo fazer parte das trioses-P, principal produto fotossintético exportado dos cloroplastos. Portanto, sob *deficit* de fósforo, a capacidade fotossintética do mesófilo é reduzida, embora a condutância estomática também possa ser diminuída. Já para PLESNICAR et al. (1994), a deficiência de fosfato afeta fortemente a eficiência de carboxilação. Em adição, RAO e TERRY (1989) asseguraram que a concentração de Pi nas folhas influencia a fotossíntese por interferir no transportador de Pi do cloroplasto, enquanto FREDEEN et al. (1989) afirmaram que, além da regulação do translocador de Pi, o nível de Pi citossólico regularia a atividade de várias enzimas envolvidas no metabolismo do amido e da sacarose.

A regulação da partição do carbono assimilado ocorre primariamente no citosol (STITT e QUICK, 1989; DAIE, 1996) e, em grande parte, é controlada pelas concentrações de triose-P e Pi (HELDT, 1997). Quando o teor de Pi no citosol é baixo, a atividade do translocador de triose-P/Pi do cloroplasto é pequena, aumentando a razão 3-PGA/Pi no cloroplasto, favorecendo a atividade da *pirofosforilase do ADPG*. No citosol, tanto a atividade da *fosfatase da frutose-1,6-bisfosfato* quanto a atividade da *sintase da sacarose fosfato* (SPS), enzimas-chave na rota de formação da sacarose, são reguladas pela razão triose-P e Pi. A

SPS, em particular, é inibida por aumento da sacarose. Sob deficiência de fósforo, essa enzima pode ser inibida pelo acúmulo de sacarose no citosol (RUFTY e HUBER, 1983), favorecendo a partição do carbono em favor do amido. Em plantas C_3 , a regulação da fotossíntese pelo produto final parece ser de grande importância. Por isso, a taxa de importação de carbono está estreitamente ligada ao metabolismo da sacarose (SUWIGNYO et al., 1995). Apesar de não estar totalmente esclarecida, a hipótese da inibição da fotossíntese pelo acúmulo de carboidratos solúveis é largamente aceita (CHAVES, 1991). O aumento inicial do teor de sacarose, geralmente observado sob deficiência de fósforo, pode ser decorrência da inibição do crescimento da planta, um dos efeitos mais visíveis da falta de fósforo. Essa inibição deve-se, em grande parte, à redução da expansão foliar (RADIN e EIDENBOCK, 1984; TURNER, 1986) que, por sua vez, pode ocorrer antes mesmo de a fotossíntese ser afetada. Em concordância, FREDEEN et al. (1989) e RAO e TERRY (1989), observaram que a redução na área foliar ocorreu antes de a fotossíntese ser afetada.

Em plantas em que os drenos metabólicos foram inibidos, SAWADA et al. (1995) propuseram que os seguintes eventos controlariam o metabolismo fotossintético: (1) acúmulo de sacarose no citoplasma das células, provocando a inibição da sua própria síntese; (2) aumento no nível de quase todos os intermediários fosforilados no citosol e cloroplastos, devido à inibição da síntese da sacarose; (3) decréscimo no nível de Pi no citosol e cloroplastos; (4) diminuição da atividade da rubisco em virtude do baixo nível de Pi no estroma; e (5) decréscimo na atividade fotossintética, como resultado da menor atividade da rubisco.

O presente trabalho objetivou determinar o efeito da deficiência hídrica e de fósforo, isoladamente e em conjunto, sobre as trocas gasosas, composição dos pigmentos foliares e sobre a partição do carbono fotoassimilado em plantas de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material Vegetal e Condições de Cultivo

Sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivares Doko RC e UFV-18, foram semeadas em uma mistura de solo e areia, na proporção de 2:1 (v:v). Após esterilização com brometo de metila, a mistura foi adubada de acordo com a análise do solo, resultando numa concentração final de 150 mg N dm⁻³ (parcelados em seis vezes), 150 mg K dm⁻³ e 25 ou 250 mg P dm⁻³ [3,7 e 88,7 mg de P dm⁻³ extraído por Mehlich 1 (VETTORI, 1969), de acordo com uma curva de incubação de fósforo] e acondicionada em vasos plásticos com capacidade para 12 dm³.

Ao atingirem o estágio V1, as plântulas foram desbastadas, deixando-se apenas uma das quatro semeadas por vaso. A partir do estágio V7 (FEHR e CAVINESS, 1977), foram adicionados, semanalmente, 300 mL da solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND, 1938) desprovida de fósforo, em cada vaso. Durante todo o período do experimento (de outubro de 1999 a janeiro de 2000), as plantas estiveram expostas às condições de luz e temperatura natural,

em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, a 20°45'S, 42°54'W, 651 m de altitude.

2.2 - Tratamentos

O experimento foi delineado em um fatorial 2 x 2 x 2. O primeiro nível refere-se às cultivares utilizadas, o segundo, às quantidade de P no substrato (25 e 250 mg de P dm⁻³ de solo) e o terceiro ao "status" hídrico da planta (potencial hídrico próximo de 0 MPa e em torno de -0,8 MPa). Dois grupos de plantas foram conduzidos concomitantemente. O primeiro foi utilizado para a avaliação do efeito do *deficit* hídrico e o segundo, para a análise dos efeitos do ressuprimento de água para as plantas estressadas. A imposição do *deficit* hídrico teve início no primeiro dia após as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento R3 (FEHR e CAVINESS, 1977). Nesse momento, a irrigação das plantas dos tratamentos de *deficit* hídrico foi suspensa, permanecendo assim até o momento das análises [em torno de dois dias para as plantas cultivadas em solo contendo 250 mg P dm⁻³ (P_C) e em torno de 12 dias para as plantas cultivadas em 25 mg P dm⁻³ (P_E)], exceto as plantas do segundo grupo, que voltaram a receber irrigação até recuperarem o "status" hídrico inicial (dois dias após a retomada da irrigação), momento em que foram utilizadas nas análises. Resultados de experimentos preliminares (dados não mostrados) foram utilizados para a determinação dos períodos de *deficit* hídrico e posterior recuperação das plantas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo utilizadas cinco repetições por tratamento.

2.3 - Determinação do potencial hídrico

Na determinação do potencial hídrico foliar, utilizou-se uma bomba de pressão tipo Scholander (SCHOLANDER et al., 1965). Foram utilizadas a quarta

e a quinta folhas totalmente expandidas, a partir do ápice, para as medições do dia inicial (dia zero) e do dia final (dia em que foram realizadas as análises) do experimento, respectivamente. Antes da coleta, as folhas foram envoltas em saco plástico. A determinação do potencial hídrico ocorreu imediatamente após a coleta das folhas. As medidas foram sempre efetuadas na antemanhã.

As medições e coleta para análises foram realizadas quando o potencial hídrico foliar na antemanhã apresentava valores entre -0,5 e -1,0 MPa nas plantas do tratamento com *deficit* hídrico [em torno de dois dias para as plantas cultivadas em solo contendo 250 mg P dm⁻³ (P_C) e em torno de 12 dias para as plantas cultivadas em 25 mg P dm⁻³ (P_E)]. Após esse período, as medições foram realizadas quando as plantas submetidas ao *deficit* hídrico foram novamente irrigadas e retomaram seu estado de hidratação normal.

2.4 - Determinações das trocas gasosas

A assimilação líquida de CO₂ (A), a condutância estomática (g_s), a taxa de transpiração (E) e as concentrações externa e interna de carbono (C_a e C_i , respectivamente) foram medidas em um analisador de gás no infra-vermelho (LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK), em sistema aberto, com fluxo de ar de 300 mL min⁻¹. As medições foram realizadas nos dois folíolos adjacentes da segunda folha superior totalmente expandida, utilizando umidade relativa do ar e temperatura ambiente e radiação artificial saturante (fluxo de fótons de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), determinada a partir de uma curva de saturação de irradiância. As leituras foram sempre realizadas entre 10:00 h e 12:00 h.

2.5 – Concentração de clorofilas

A concentração de clorofilas foi estimada nas mesmas folhas das medidas fotossintéticas, após extração com acetona a 80% (ARNON, 1949), utilizando-se as equações sugeridas por BARNES et al. (1992).

2.6 - Frações de fósforo

A fração de fósforo inorgânico foi determinada nos mesmos folíolos utilizados para a determinação dos parâmetros fotossintéticos. A extração foi realizada, utilizando-se o método proposto por PEREIRA (1992); a quantificação seguiu a metodologia descrita por LINDEMAN (1958), dosando-se o complexo "azul de molibdênio", a 720 nm.

2.7 - Proteínas solúveis totais

As proteínas solúveis totais foram quantificadas pelo método de MiniBradford, que é uma modificação do originalmente proposto por BRADFORD (1976), utilizando-se reagente de Comassie Blue sob concentração 5 vezes maior que no método original. As leituras de absorvância a 595 nm foram feitas em leitora de placa de Elisa (Versamax, Molecular Devices, Sunnyvale, EUA), num volume total de 250 µL.

2.8 - Concentrações de carboidratos

Os carboidratos foram determinados nas mesmas folhas utilizadas para as medições fotossintéticas. O material vegetal foi pesado e imediatamente congelado em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenado a -20 °C até o momento das análises. Os teores de amido, açúcares solúveis totais e açúcares redutores foram determinados em amostras de folhas (1g matéria fresca) homogeneizadas em almofariz e graal com etanol a 80%, fervente. Em seguida, o material foi centrifugado a 2000 g por 10 minutos e o sobrenadante recolhido. O precipitado foi ressuspenso com etanol a 80%, fervente, novamente centrifugado e o sobrenadante adicionado à primeira alíquota recolhida, processo repetido por mais duas vezes. O volume do sobrenadante foi então completado para 25 mL com etanol a 80%, fervente. O precipitado foi ressuspenso com ácido perclórico

e novamente centrifugado a 2000 g por 10 minutos (duas vezes), resultando numa solução final de 6,9% de ácido perclórico, na qual determinou-se o teor de amido pela reação com antrona (HODGE e HOFREITER, 1962). A partição do extrato alcoólico (10 mL) foi realizada em funil de separação, com clorofórmio (10 mL) e água (9 mL). Em seguida, a fase aquosa foi evaporada com a utilização de um evaporador rotativo a vácuo, até a secura completa. Em seguida, adicionaram-se 3 mL de água e o extrato assim obtido foi utilizado para determinar o teor de açúcares solúveis totais (AST) pela reação com antrona (HODGE e HOFREITER, 1962) e o teor de açúcares redutores (AR) pelo método de Nelson-Somogy (NELSON, 1944 e SOMOGY, 1952). Os teores de açúcares não-redutores (ANR) foram determinados pela diferença entre AST e AR e os carboidratos não-estruturais (CNE), pela soma de AST e amido.

2.9 - Atividade da pirofosforilase do ADPG (ADPGase)

Para a determinação da atividade da *pirofosforilase do ADPG*, imediatamente após a coleta, as folhas foram imersas e mantidas em nitrogênio líquido até o início da extração enzimática. Os processos de extração e determinação da atividade enzimática foram realizados de acordo com a metodologia de KERR et al. (1984), com algumas modificações. O tecido foi homogeneizado em almofariz e graal (0,5 g de folha/1,5 mL de tampão), em um meio contendo Hepes-NaOH (pH 7,5), 50 mol m⁻³; MgCl₂, 5 mol m⁻³; ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), 1 mol m⁻³; Glutathiona reduzida (GSH), 2 mol m⁻³; polivinilpirrolidina (PVP), 1%; albumina de soro bovino (BSA), 1%; e polivinilpolipirrolidina (PVPP), 2%. Em seguida, o macerado foi centrifugado a 16.000 g por 10 minutos a 4 °C, recolhendo-se o sobrenadante. Deste, 0,5 mL foi dessalinizado em coluna Sephadex G-25 com 2,0 mL do tampão, recolhendo-se 1,5 mL do eluído primeiramente. Para a determinação da atividade enzimática, 50 µL do extrato foliar foram adicionados a 940 µL do seguinte meio de reação: Hepes-KOH (pH 8,0), 50 mol m⁻³; MgCl₂, 5 mol m⁻³; ADP-glicose, 1,0 mol m⁻³;

NADP⁺, 0,3 mol m⁻³; 3-PGA, 0,5 mol m⁻³; 1U fosfoglicomutase, 1U desidrogenase da glicose 6-P. A reação foi iniciada com a adição de PPI, 2 mol m⁻³ e a atividade acompanhada por 40 minutos, observando-se a redução do NADP⁺ (absorbância a 340 nm), a 25 °C.

2.10 - Massa seca da parte aérea

No final do experimento, a parte aérea das plantas foi separada em folhas e caule + pecíolos e desidratada em estufa de circulação forçada de ar, a 70 °C, para a determinação da matéria seca.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito das deficiências de fósforo e de água nos parâmetros de intercâmbio do carbono

Ao atingirem o estágio R3, as plantas das duas cultivares exibiram, dentro de cada nível de fósforo, a mesma taxa fotossintética líquida (A), ao passo que as plantas cultivadas em 250 mg P dm^{-3} (P_C) exibiram taxa fotossintética líquida maior que as plantas cultivadas em 25 mg P dm^{-3} (P_E), independentemente da cultivar (Figura 1).

Quando as plantas foram submetidas ao *deficit* hídrico (H_E) (Figura 2), ocorreu redução drástica na taxa fotossintética líquida das duas cultivares, indistintamente do nível de fósforo utilizado no solo (Quadro 1). Grande parte dessa redução pode ser creditada a limitações estomáticas, uma vez que, independentemente do nível de fósforo no solo, a condutância estomática (g_s) foi menor sob condições de *deficit* hídrico (Quadro 1) e houve uma correlação significativamente positiva entre g_s e A (Figura 3). A taxa transpiratória (E) foi também menor nas plantas sob *deficit* hídrico, indistintamente do nível de fósforo (Quadro 1). A relação entre as concentrações interna e externa de CO_2 (C_i/C_a)

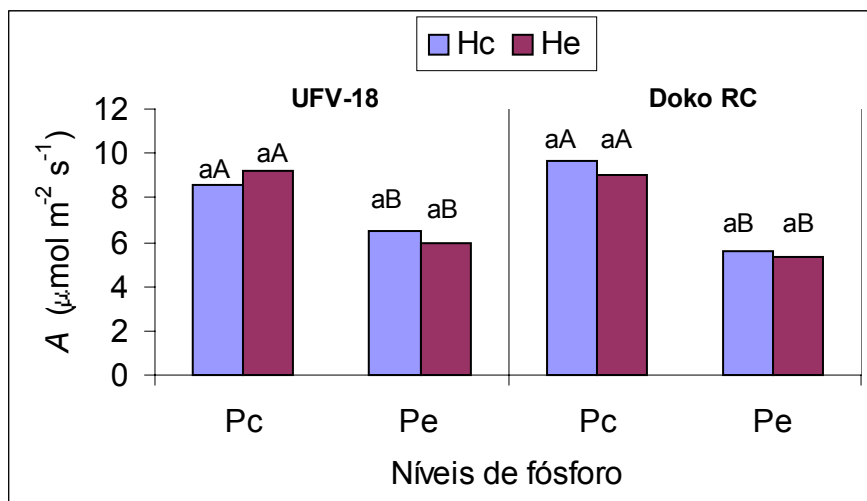


Figura 1 - Taxa fotossintética líquida (A) de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (250 e 25 mg dm^{-3} - P_C e P_E , respectivamente) e que serão submetidas (H_E) ou não (H_C) a *deficit* hídrico. Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$. Não houve diferença entre as cultivares

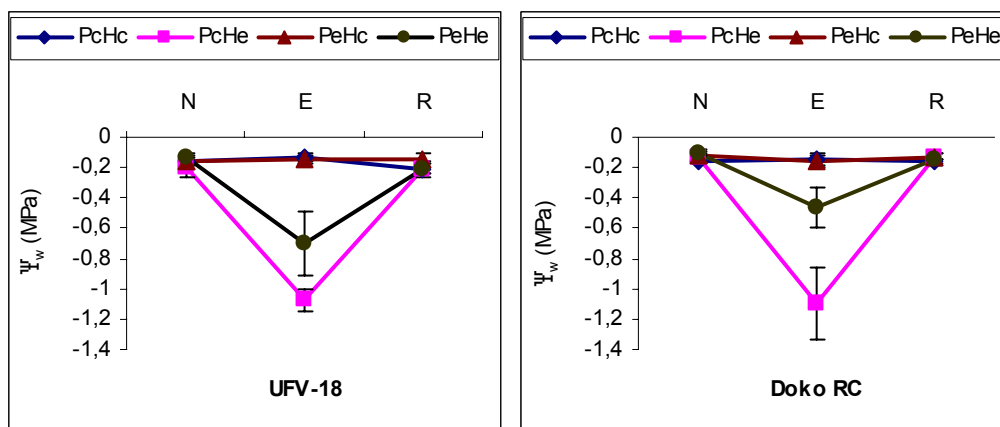


Figura 2 - Potencial hídrico (Ψ_w) das plantas de soja cultivadas sob condições normais ($P_C H_C$), de *deficit* hídrico ($P_C H_E$), de *deficit* de fósforo ($P_E H_C$) e de *deficits* hídrico e de fósforo ($P_E H_E$). N - início da imposição do *deficit* hídrico; E - máximo *deficit* hídrico; R - final da recuperação do *deficit* hídrico; P_C e $P_E = 250$ e 25 mg P dm^{-3} , respectivamente; H_C e $H_E =$ plantas não submetidas e submetidas a *deficit* hídrico, respectivamente. As barras representam o desvio padrão da média

Quadro 1 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) na taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), na condutância estomática ao vapor d'água (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), na razão entre concentrações interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) e na eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ CO}_2/\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) de plantas de soja

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
A	P_C	10,45 aA	0,54 aB	9,91 aA	1,02 aB
	P_E	4,83 bA	1,65 aB	4,74 bA	0,77 aB
g_s	P_C	0,40 aA	0,06 bB	0,49 aA	0,13 aB
	P_E	0,40 aA	0,20 aB	0,31 bA	0,10 aB
E	P_C	5,57 aA	2,16 bB	6,27 aA	3,76 aB
	P_E	4,05 bA	3,05 aB	6,54 aA	4,03 aB
C_i/C_a	P_C	0,681 bB	0,889 aA	0,719 bB	0,886 aA
	P_E	0,865 aB	0,901 aA	0,792 aB	0,874 aA
EUA	P_C	1,876 aA	0,246 bB	1,577 aA	0,266 aB
	P_E	1,188 bA	0,537 aB	0,723 bA	0,179 aB

	Efeito de Cultivares							
	$P_C H_C$		$P_C H_E$		$P_E H_C$		$P_E H_E$	
	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC
A								
g_s		*			*		*	
E		*		*		*		*
C_i/C_a		*			*			
EUA	*				*		*	

Nas colunas, para cada característica, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey.

* média significativamente maior pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

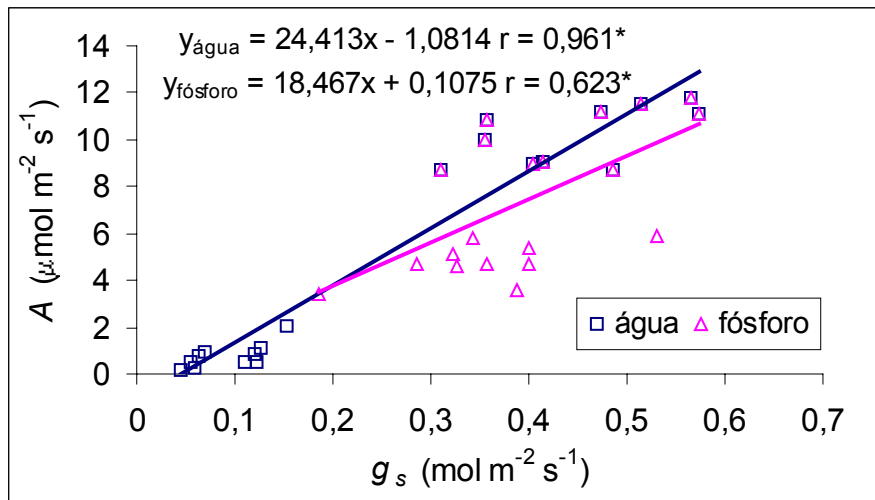


Figura 3 - Relação entre condutância estomática (g_s) e taxa fotossintética líquida (A) de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C). * significativo pelo teste de t a $p \leq 0,001$

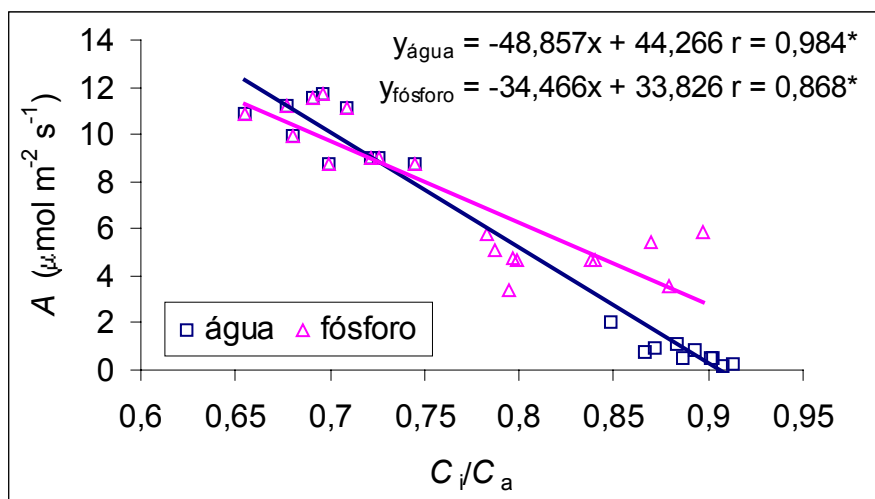


Figura 4 - Relação entre a razão das concentrações interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) e a taxa fotossintética líquida (A) de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C). * significativo pelo teste de t a $p \leq 0,001$

aumentou com o *deficit* hídrico, nos dois níveis de fósforo (Quadro 1), proporcionando uma correlação significativamente negativa entre C_i/C_a e fotossíntese (Figura 4). Isso poderia indicar uma limitação não-estomática da fotossíntese. No entanto, o aumento em C_i/C_a pode ser consequência de artefatos na estimativa de C_i , proporcionado pelo fechamento desuniforme dos estômatos, processo observado em várias espécies submetidas a deficiência hídrica (CHAVES, 1991; WISE et al., 1992). Entretanto, grande parte da elevação na relação C_i/C_a pode ser, possivelmente, resultante de um aumento da fotorrespiração (DUA et al., 1994; CORNIC, 2000), como sugerido no capítulo † (manutenção do transporte de elétrons nos fotossistemas). Em milho, uma planta C_4 que não apresenta fotorrespiração aparente, PELLESCI et al. (1997) observaram que, além da queda na fotossíntese, a deficiência hídrica provocou redução tanto de g_s quanto de C_i . Tal fato, mais uma vez sugere a participação da fotorrespiração no aumento de C_i . Segundo MAURY et al. (1996), a capacidade de reciclar o CO_2 fotorrespirado pode ser o principal fator de tolerância do aparato fotossintético ao *deficit* hídrico.

Sob deficiência apenas de fósforo, a taxa fotossintética líquida diminuiu cerca de 53% (Quadro 1). Nas plantas deficientes em água (H_E), A decresceu fortemente, mascarando o efeito do *deficit* de fósforo (Quadro 1). Além de as plantas do tratamento H_E , independente do nível de fósforo no solo, apresentarem baixas taxas fotossintéticas, os erros-padrão das médias foram mais elevados, o quê, provavelmente, dificultou a observância de diferenças nas taxas fotossintéticas dessas plantas. Nas plantas sob irrigação contínua (H_C), redução em g_s foi observada apenas nas plantas de Doko RC (Quadro 1); nas plantas submetidas a *deficit* hídrico (H_E), g_s foi maior no cultivar UFV-18 deficiente em fósforo (Quadro 1). Devido a essas discrepâncias, a correlação entre g_s x A foi baixa ($r = 0,623$) (Figura 3), indicando que a redução da taxa fotossintética, decorrente do *deficit* de fósforo, pode não ser atribuída à redução na condutância estomática. Além disso, a maior relação C_i/C_a sob deficiência de fósforo (Quadro 1) e a correlação significativa entre a relação C_i/C_a e a taxa fotossintética

($r = -0,868$) (Figura 4) indicam que menores valores da taxa fotossintética devem ser resultado de limitações não-estomáticas.

Comparando-se as cultivares, não se observaram diferenças na taxa fotossintética líquida das mesmas, enquanto a taxa transpiratória foi maior no cultivar Doko RC em todas as combinações de água e fósforo (Quadro 1). Nos tratamentos P_E a condutância estomática do cultivar Doko RC foi menor, o que mostra uma falta de paralelismo entre g_s e E . Os resultados aqui apresentados indicam maior eficiência do uso da água pelo cultivar UFV-18 (Quadro 1). Segundo CHAVES (1991), citando vários autores, aumento na eficiência do uso da água é quase sempre observado em genótipos bem adaptados ao *deficit* hídrico.

3.2. Efeito das deficiências de fósforo e de água nos teores dos pigmentos foliares, fósforo inorgânico e proteínas solúveis totais

Os teores de clorofila não foram alterados pelo *deficit* de água. Sob deficiência de fósforo, os teores de clorofilas *a*, *b* e total foram reduzidos apenas no cultivar Doko RC (Quadro 2), exceto a clorofila *b* das plantas de UFV-18 submetidas a deficiências simultâneas, mas sem efeitos aparentes sobre a taxa fotossintética, visto que esse parâmetro decresceu nas duas cultivares. Apesar dos maiores efeitos do *deficit* de fósforo no cultivar Doko RC, não houve diferenças entre as cultivares quanto aos teores de clorofilas (Quadro 2). Em plantas de milho e de feijão, o *deficit* de fósforo não provocou redução no teor de clorofilas, conforme verificado por USUDA e SHIMOGAWARA (1991) e LIMA et al. (1999), respectivamente, ao passo que PLESNICAR et al. (1994) observaram menor teor de clorofilas em plantas de girassol cultivada em baixo nível de fósforo. Essa discrepância deve ser resultado dos diferentes teores de fósforo empregados nos experimentos e da maneira como os experimentos foram conduzidos.

Quadro 2 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) sobre os teores de clorofila *a*, *b* e total (mg g^{-1} MS) de plantas de soja

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
Chl <i>a</i>	P_C	6,26 aA	6,43 aA	6,74 aA	6,53 aA
	P_E	5,56 aA	5,37 aA	4,58 bA	4,25 bA
Chl <i>b</i>	P_C	1,60 aA	1,64 aA	1,65 aA	1,69 aA
	P_E	1,38 aA	1,34 bA	1,15 bA	1,21 bA
Chl total	P_C	7,86 aA	8,08 aA	8,40 aA	8,22 aA
	P_E	6,94 aA	6,71 aA	5,73 bA	5,46 bA

Nas colunas, para cada característica, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey. Não houve diferenças entre as cultivares

As plantas crescidas em solos com *deficit* de fósforo apresentaram reduções de 83% e 82% no teor de Pi das folhas dos cultivares UFV-18 e Doko RC, respectivamente (Figura 5A). Com relação a influência do *deficit* hídrico, nas plantas cultivadas no nível mais alto de fósforo, o teor de Pi foliar foi reduzido, resultado, possivelmente, da baixa taxa transpiratória das plantas neste tratamento (Quadro 1). Nas plantas de P_E, independentemente da quantidade de água no solo, a baixa absorção de fósforo pelas plantas foi, provavelmente, responsável pela falta de diferença nos teores de Pi entre os tratamentos de água (Figura 5A).

Sob restrição hídrica, os teores de proteínas solúveis totais não se modificaram (Figura 6A). HARN e DAIE (1992) também não encontraram diferenças no teor de proteínas, enquanto CASTRILLO e TRUJILLO (1994) verificaram diminuição das proteínas solúveis totais em feijão. Do mesmo modo que o *deficit* hídrico, a deficiência de fósforo não alterou os teores de proteínas solúveis totais (Figura 6A). Expressando-se os teores de proteínas solúveis totais em base de matéria seca, a única diferença encontrada foi uma redução de 30% das mesmas nas folhas de UFV-18 submetidas a *deficit* hídrico (dados não mostrados).

Os valores de proteínas solúveis totais podem sugerir inalteração na quantidade de rubisco em função dos tratamentos implantados, já que a rubisco representa cerca de 40% do total de proteínas solúveis na folha (TAIZ e ZEIGER, 1998). Além disso, a planta possui rubisco em excesso, e redução de até 68% em sua quantidade não modificou a fotossíntese de plantas de tabaco (GUNASEKERA e BERKOWITZ, 1993).

3.3. Efeito das deficiências de fósforo e de água na partição do carbono fotoassimilado e massa seca das plantas

Paralelamente à redução da taxa fotossintética líquida nas plantas submetidas a *deficit* hídrico, houve também decréscimo nos teores de amido

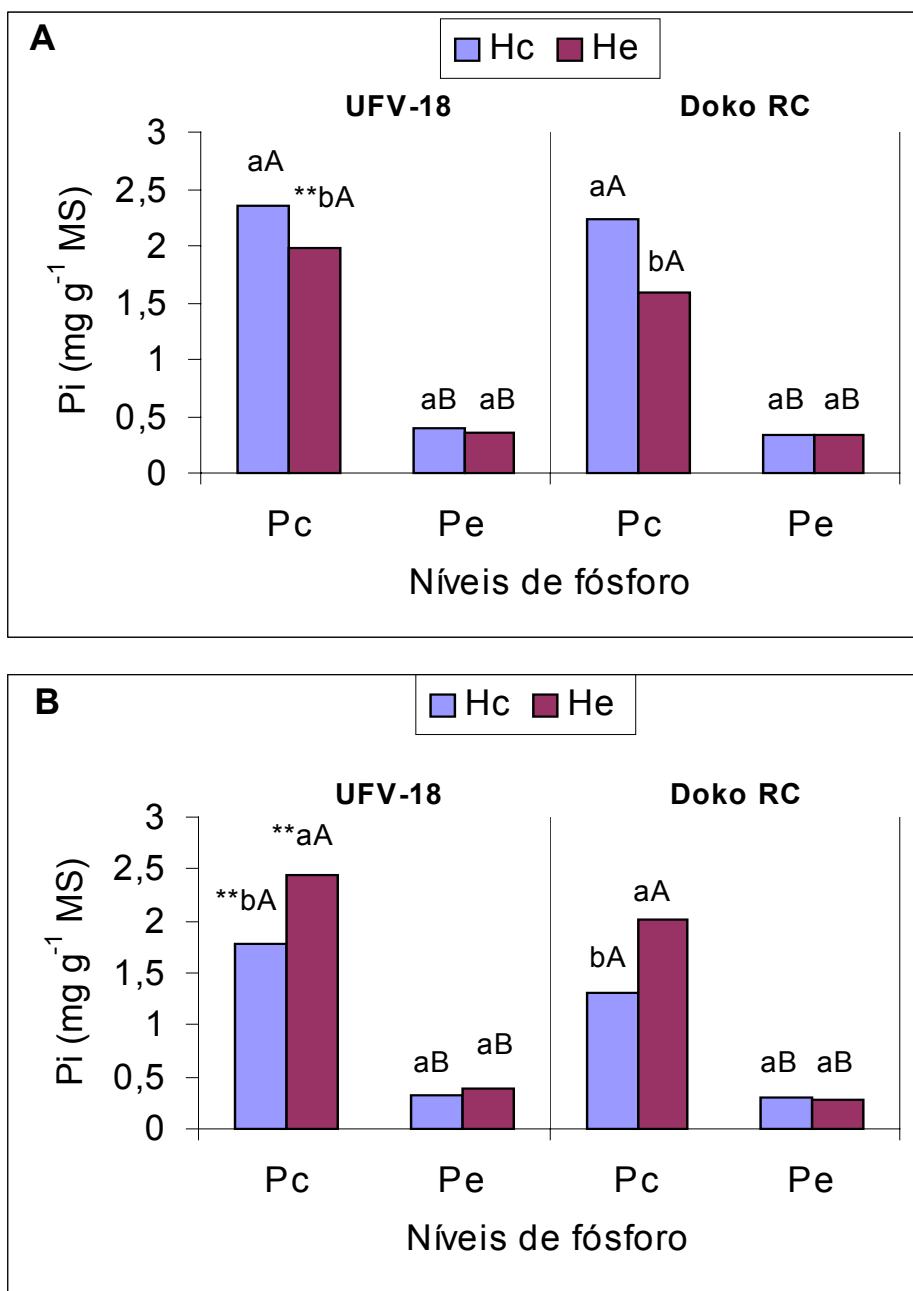


Figura 5 - (A) Teor de ortofosfato (Pi) foliar em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

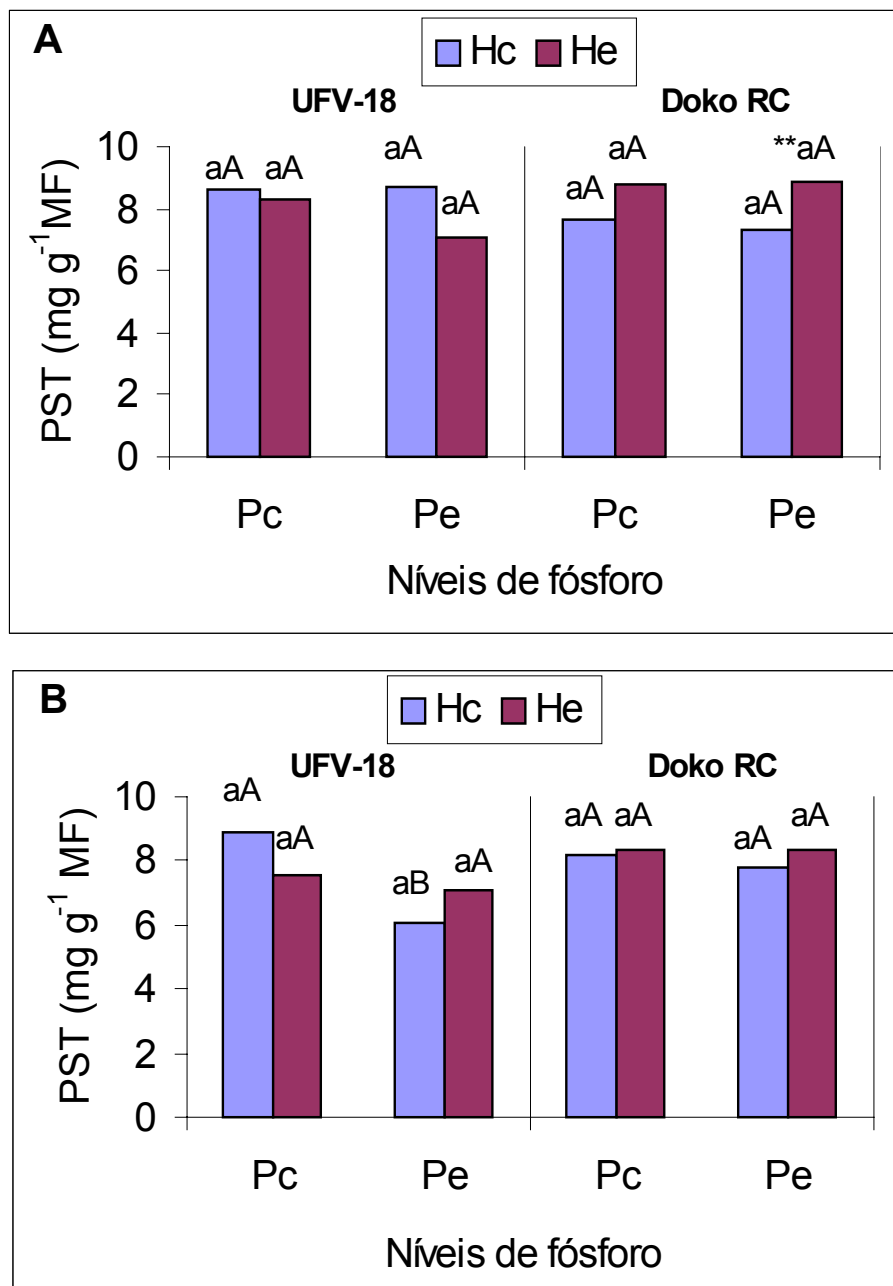


Figura 6 - (A) Teor de proteínas solúveis totais (PST) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

foliar (Figura 7A). Esse decréscimo parece ter sido governado, fundamentalmente, por uma maior atividade de degradação em relação à atividade de síntese, uma vez que a atividade da *pirofosforilase do ADPG*, enzima-chave na síntese de amido, não foi afetada (Figuras 8A e 9A) e o teor de açúcares não-redutores (formado na sua maior parte por sacarose) aumentou em função do *deficit* hídrico, para as duas cultivares, nos dois níveis de fósforo no solo (Figura 10A). Por sua vez, o presumível aumento no teor de sacarose pode ter sido o responsável pela manutenção da atividade da *pirofosforilase do ADPG*, uma vez que, com acúmulo de sacarose, a atividade da SPS é inibida e, conseqüentemente, a exportação de triose-P do cloroplasto é diminuída, favorecendo a síntese de amido (DENNIS e BLAKELEY, 2000). HUBER et al. (1984) também verificaram em soja submetida a *deficit* hídrico redução no teor de amido. No entanto, ao contrário dos resultados aqui apresentados, os autores acima citados observaram menor nível de sacarose nas plantas deficientes em água. Essa diferença pode ser conseqüência dos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas utilizados para as análises nos dois experimentos.

O *deficit* hídrico provocou ainda um aumento no teor de açúcares redutores (Figura 11A), contribuindo, pois, para o aumento observado no teor de açúcares solúveis totais (Figura 12A). HARN e DAIE (1992), em experimento com beterraba, também encontraram redução no teor de amido e aumento no teor de sacarose, em função do *deficit* hídrico. Observaram, ainda, queda na quantidade da SPS e aumento na ativação da SPS remanescente. O aumento concomitante da sacarose e dos açúcares redutores parece indicar que a taxa de degradação do amido é superior à capacidade da folha de sintetizar e exportar a sacarose. Esse aumento nos teores de açúcares sugere que as plantas procuraram ajustar-se osmoticamente ao *deficit* hídrico. Como o amido é a maior reserva de carboidratos nas folhas de soja, os teores de carboidratos não-estruturais (CNE) foram reduzidos nas duas cultivares, independentemente do nível de fósforo no solo, à exceção das plantas de Doko RC cultivadas em P_C (Figura 13A). Nessas plantas, o teor de CNE foi baixo mesmo naquelas que não sofreram *deficit*

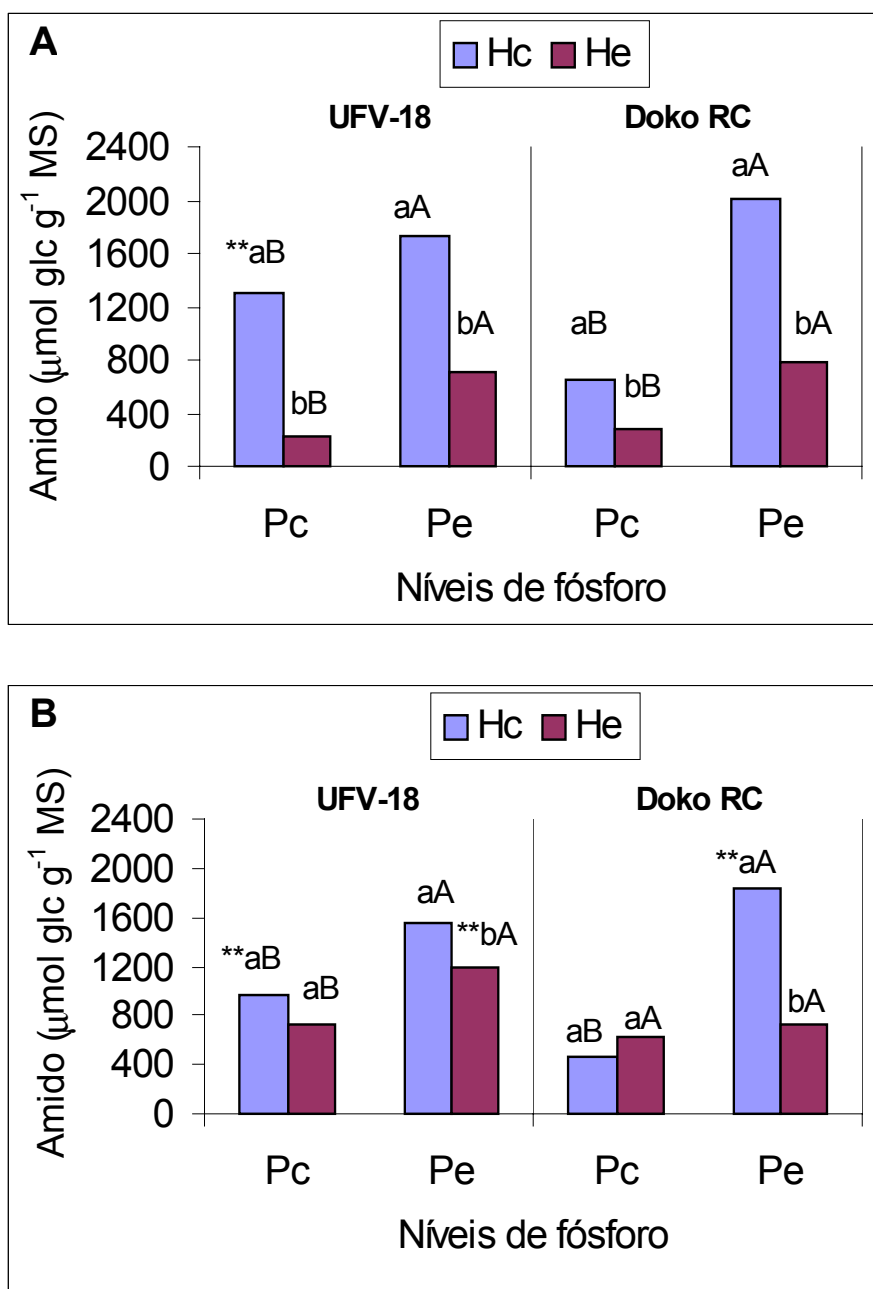


Figura 7 - (A) Teor de amido (equivalentes de glicose x 0,9) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

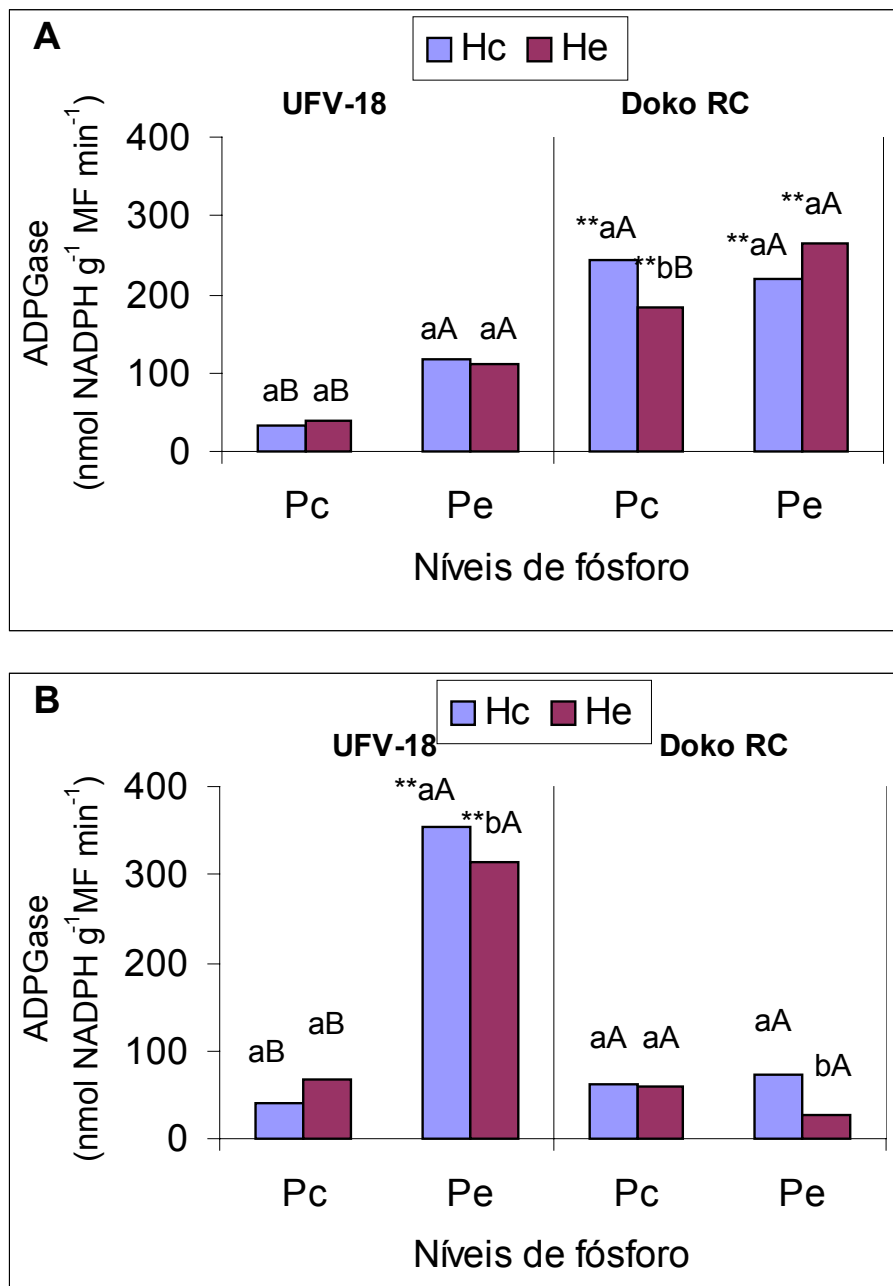


Figura 8 - (A) Atividade total da *pirofosforilase do ADPG*, em folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

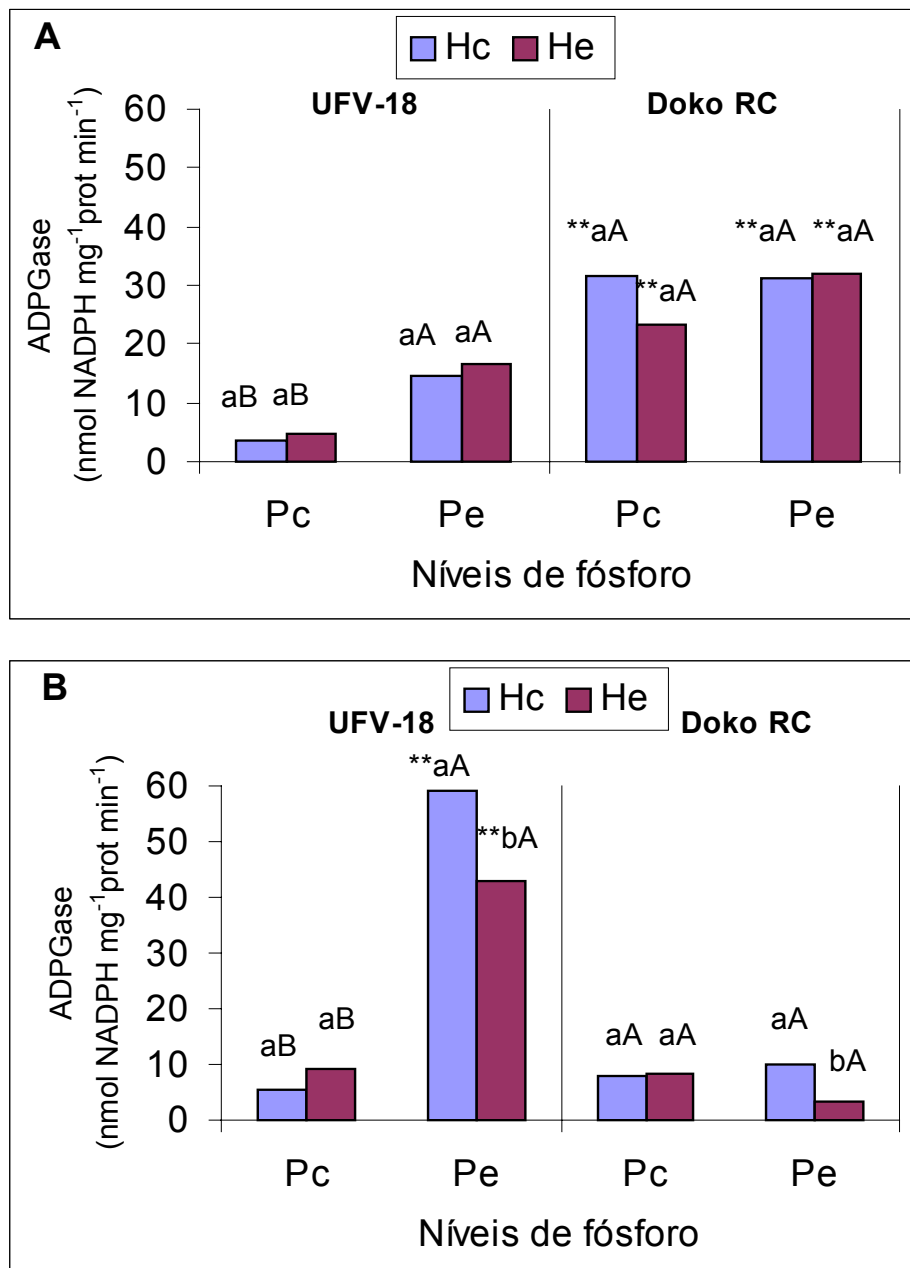


Figura 9 - (A) Atividade específica da *pirofosforilase do ADPG* em folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

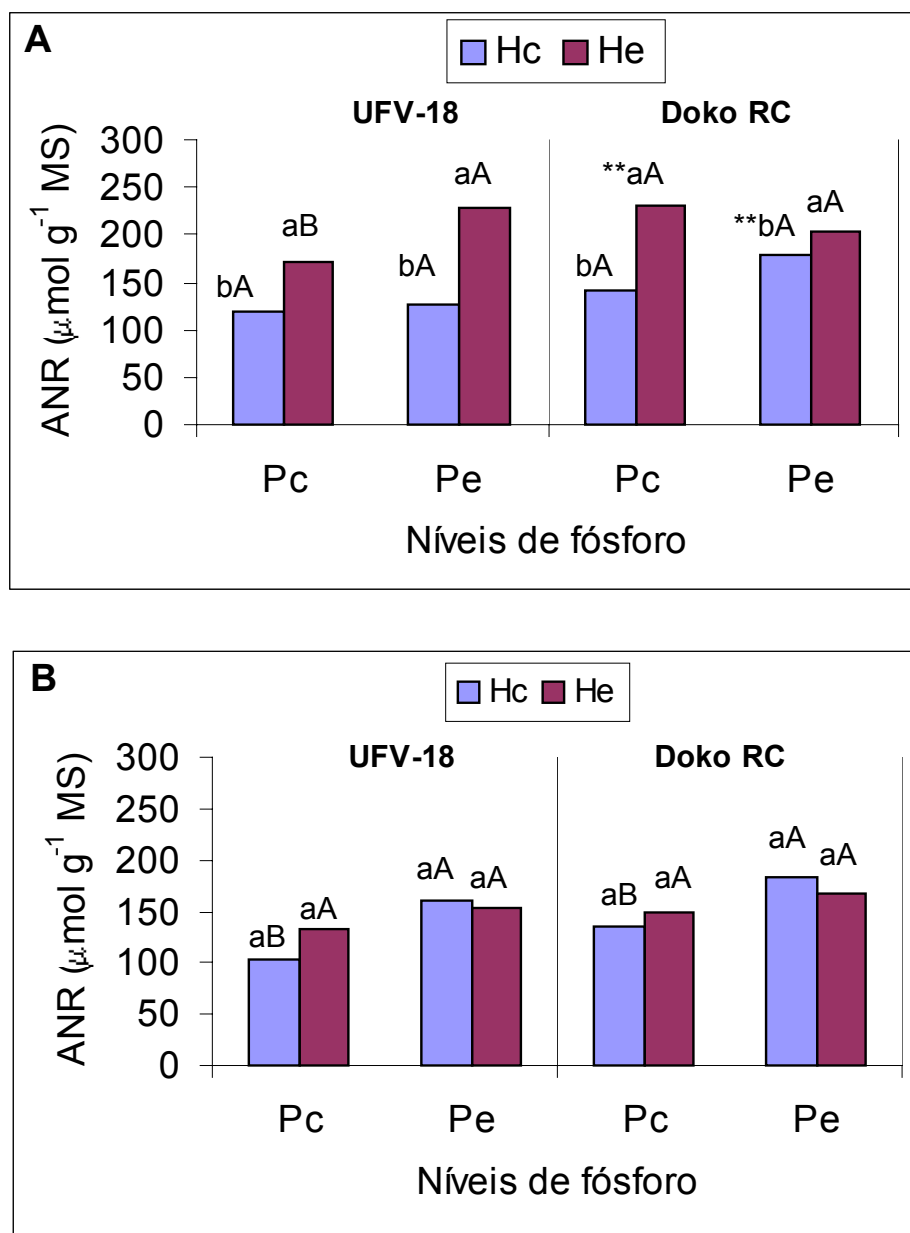


Figura 10 - (A) Teor de açúcares não redutores (ANR) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a p ≤ 0,05

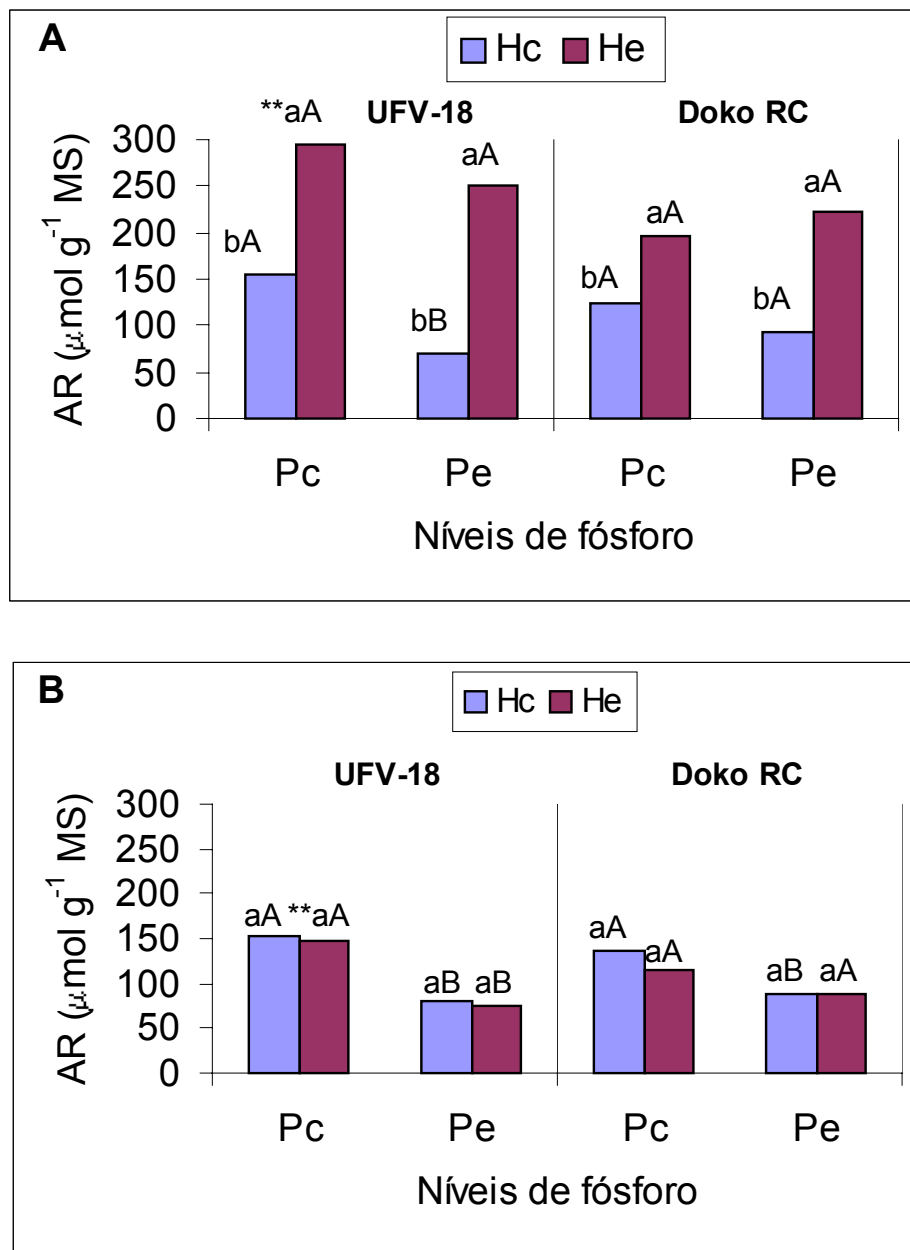


Figura 11 - (A) Teor de açúcares redutores (AR) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

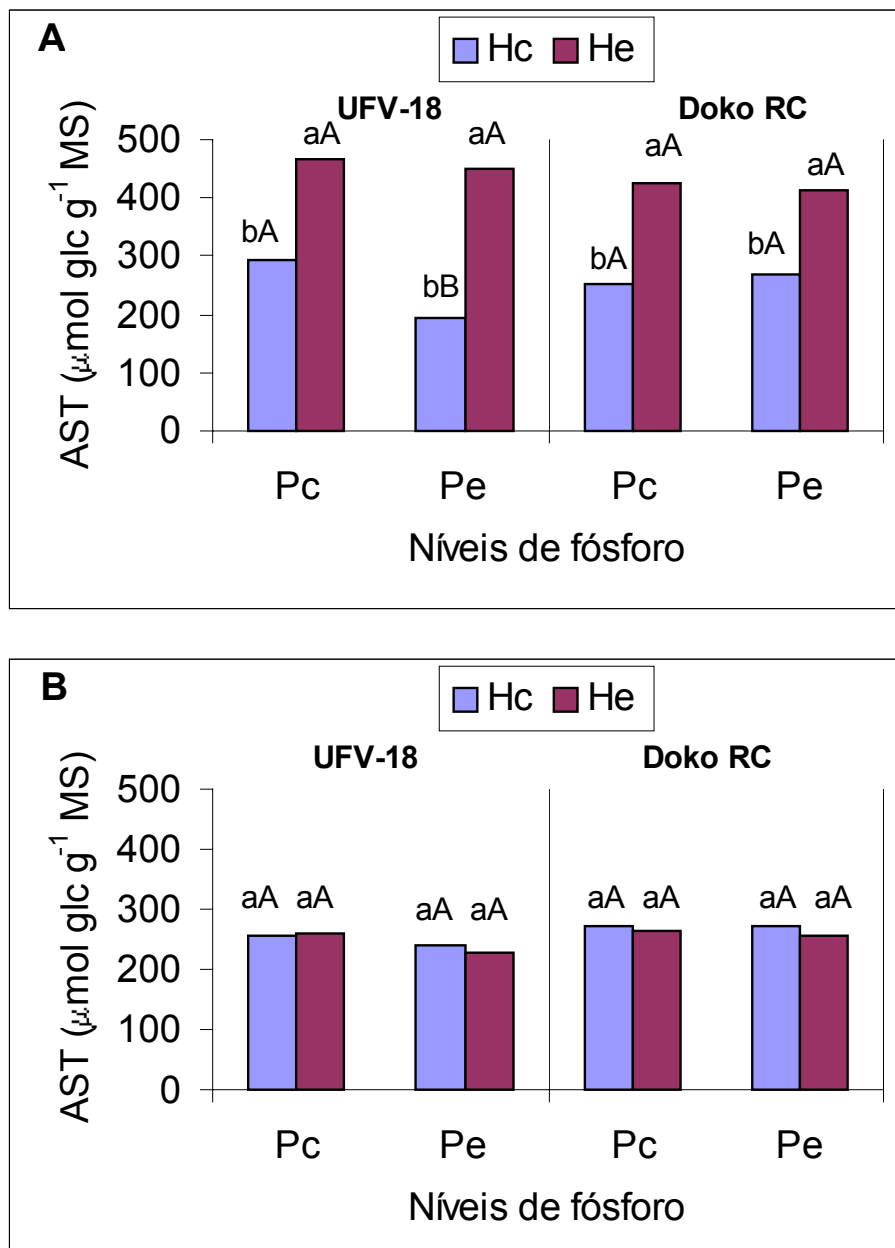


Figura 12 - (A) Teor de açúcares solúveis totais (AST) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

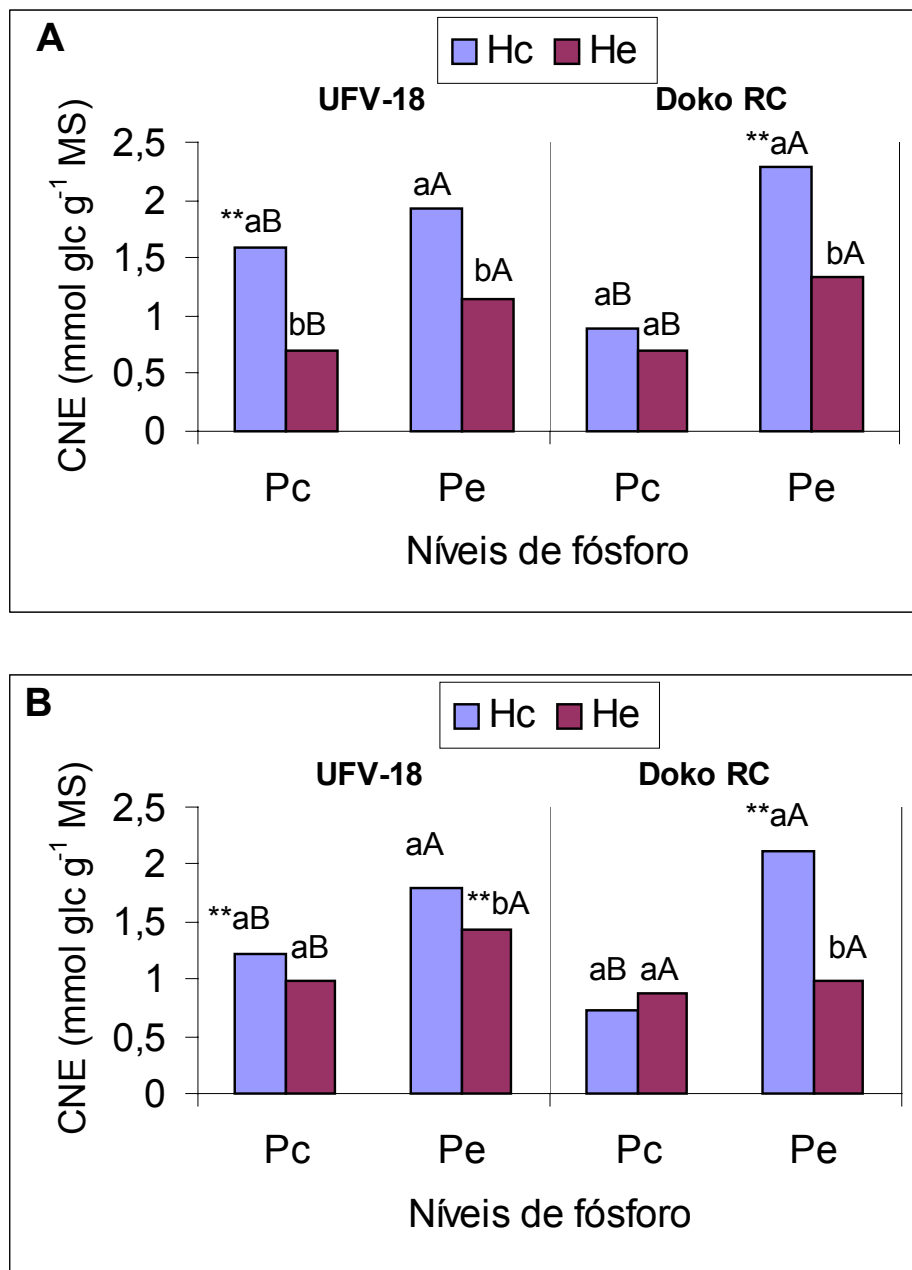


Figura 13 - (A) Teor de carboidratos não-estruturais (CNE) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

hídrico (única combinação de fósforo e água em que houve diferença significativa entre as cultivares). Esse fato pode ser decorrência de uma maior incorporação de fotoassimilados em compostos estruturais da folha, ou de uma maior taxa de transporte desses assimilados para o sistema radicular. As mudanças na partição do carbono em função do *deficit* hídrico fizeram com que a razão amido/açúcares não-redutores fosse reduzida drasticamente (Figura 14A), fato também observado por CASTRILLO (1992).

Sob deficiência de fósforo, houve aumento na atividade total da *pirofosforilase do ADPG* (Figura 8A), resultado semelhante ao de FREDEEN et al. (1989), e aumento na atividade específica no cultivar UFV-18 (Figura 9A), elevando o teor de amido foliar (Figura 7A). Por outro lado, o teor de açúcares não-redutores (especialmente sacarose) não foi alterado pelo *deficit* (Figura 10A). O efeito da deficiência de fósforo no teor de sacarose foliar é controverso. FREDEEN et al. (1989), também em trabalho com soja, observaram diminuição nos teores de sacarose em plantas deficientes em fósforo, resultado da redução na atividade da SPS e aumento na atividade da *invertase ácida*, enquanto CIERESZKO e BARBACHOWSKA (2000) observaram, em feijão, aumento da sacarose. Com exceção da diminuição nos teores de açúcares redutores e solúveis totais das plantas do cultivar UFV-18 mantidas irrigadas, o *deficit* de fósforo não modificou os teores das duas classes de açúcares nos demais tratamentos (Figuras 11A e 12A). Como consequência, os CNE foram aumentados (Figura 13A), bem como a relação amido/açúcares não-redutores (Figura 14A). Aumento dos CNE em folhas de soja deficientes em fósforo também foi encontrado por Sa e Israel (1998).

Apesar do efeito, *per se*, do baixo teor de Pi, já que ele claramente tem papel importante na regulação fina da partição do carbono assimilado, regulando um grande número de enzimas (DENNIS e BLAKELEY, 2000), a queda da taxa fotossintética líquida, em função do *deficit* de fósforo, pode ser decorrente da redução no crescimento das plantas. Nesse sentido, BASU et al. (1999) verificaram que o aumento no nível dos carboidratos foliares (amido, sacarose e

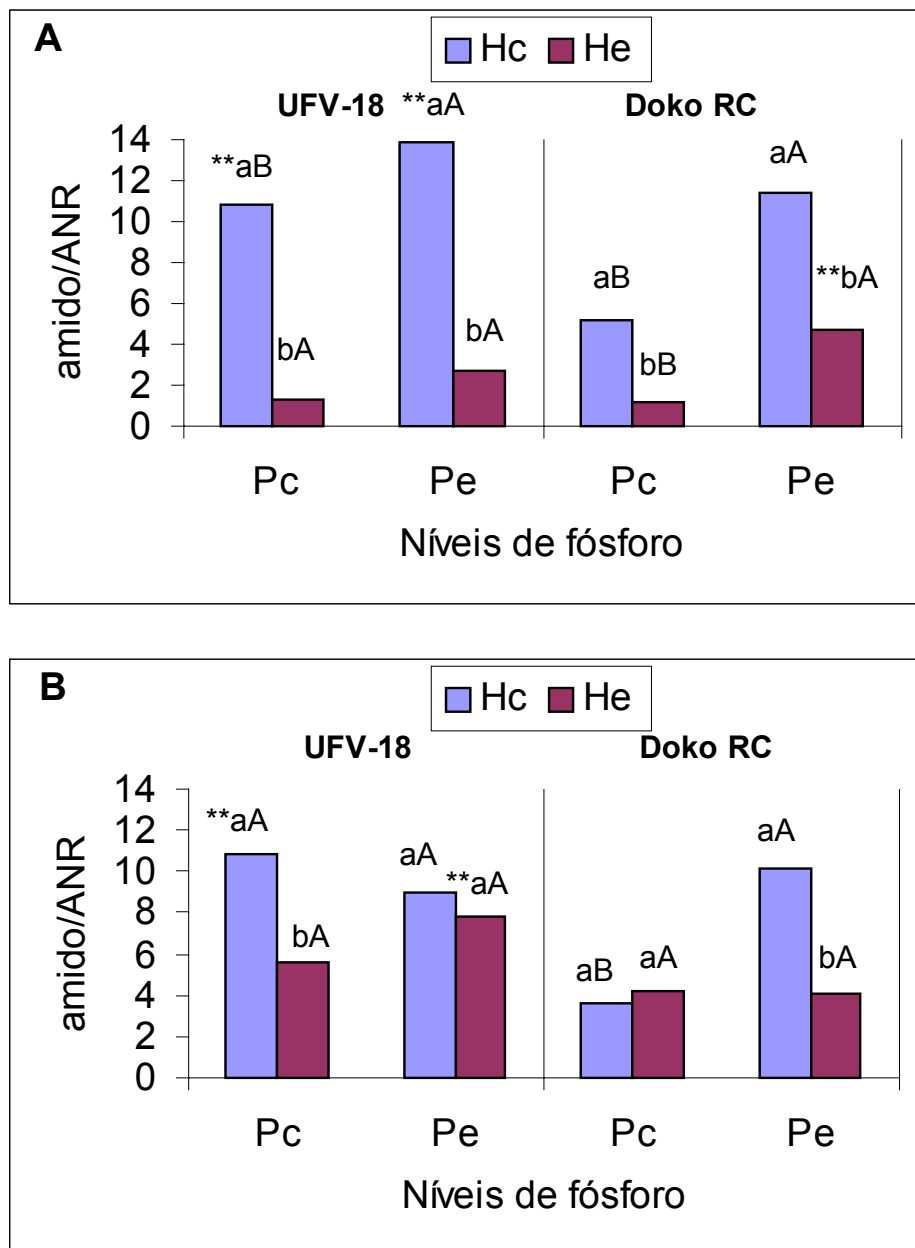


Figura 14 - (A) Razão amido/açúcares não redutores (ANR) nas folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

hexoses), em função da remoção dos drenos (tubérculos), foi a principal causa da redução da fotossíntese de batata. CHAPIN e WARDLAW (1988) encontraram redução no número e na atividade dos drenos de plantas de cevada deficientes em fósforo. Em folhas excisadas, RUFTY e HUBER (1983) verificaram que o amido e a sacarose aumentaram, provocando queda na fotossíntese. QIU e ISRAEL (1994) observaram, em soja, que apesar de a exportação de sacarose das folhas ter diminuído sob deficiência de fósforo, um aumento contínuo dos teores de amido no caule e raízes foi observado. Isso indica que a redução da exportação de carboidratos não foi o fator primário da redução no crescimento de órgãos não-fotossintéticos, tese também defendida por RODRIGUEZ et al. (2000).

O *deficit* de água não influenciou o acúmulo da massa seca das folhas e da parte aérea das plantas, exceto nas plantas de Doko RC cultivadas no nível mais alto de fósforo (P_C). Nestas, a deficiência hídrica provocou redução da massa seca (Figura 15A e 16A). Concomitantemente, naquele mesmo tratamento, o teor de CNE das plantas mantidas irrigadas foi baixo (Figura 13A), o que sugere uma maior incorporação de carboidratos em compostos estruturais. A pouca influência da baixa taxa fotossintética líquida sobre a massa final das plantas sob *deficit* hídrico, em grande parte, deveu-se ao fato de que o *deficit* fora implantado no estágio R3, fase em que as plantas não mais apresentavam expansão da lâmina foliar e praticamente todo o carbono fotoassimilado estava sendo utilizado no desenvolvimento reprodutivo, além da curta duração do período de deficiência hídrica.

O crescimento da planta, estimado pela massa seca das folhas e parte aérea, foi acentuadamente reduzido com o *deficit* de fósforo (Figuras 15A e 16A), resultados observados também por PLESNICAR et al. (1994) e AL-KARAKI et al. (1995). FREDEEN et al. (1989) atribuíram a diminuição no crescimento da lâmina foliar, em função de deficiência de fósforo, à redução na expansão das células epidérmicas; essa redução pode ser conseqüência da menor condutância hidráulica das plantas deficientes em fosfato (RAO e TERRY, 1989).

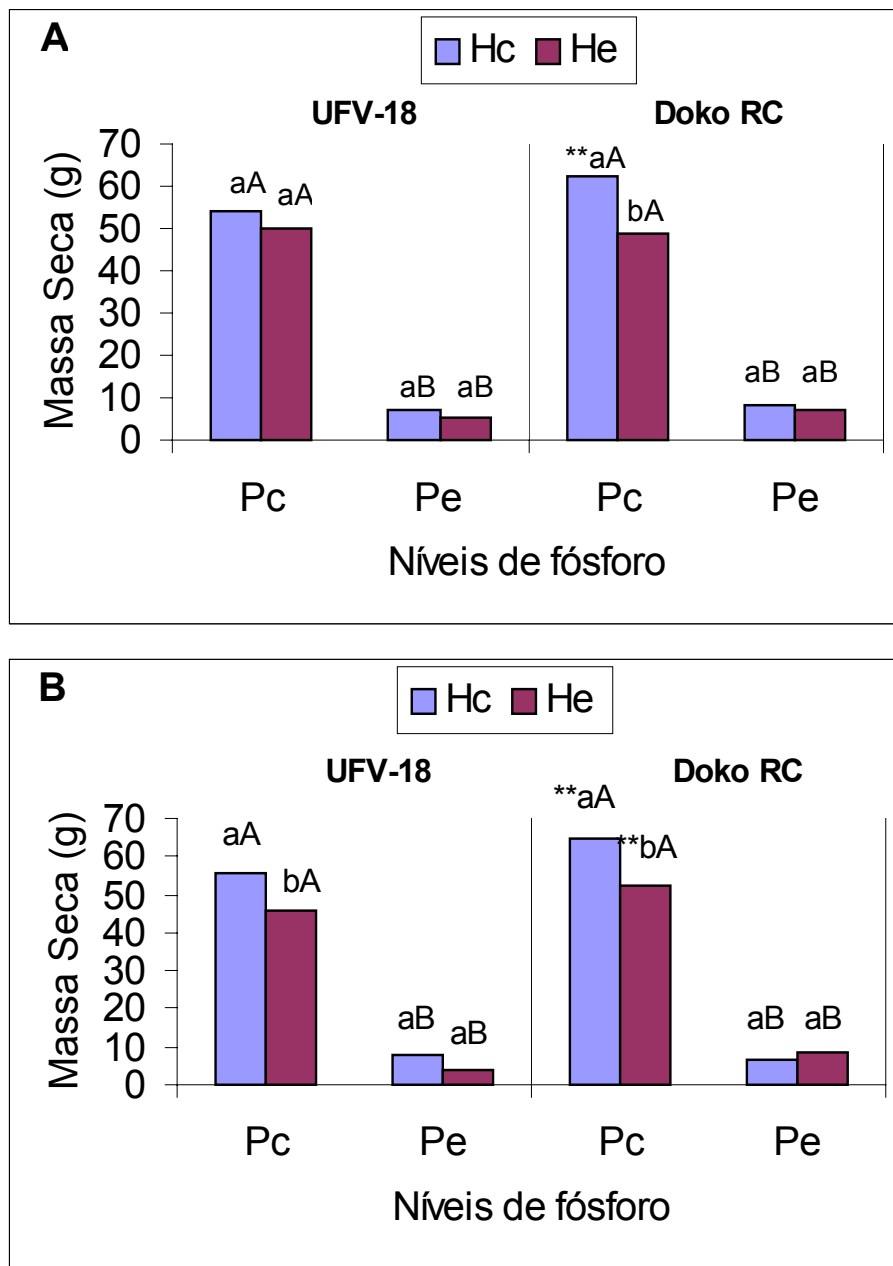


Figura 15 - (A) Massa seca de folhas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

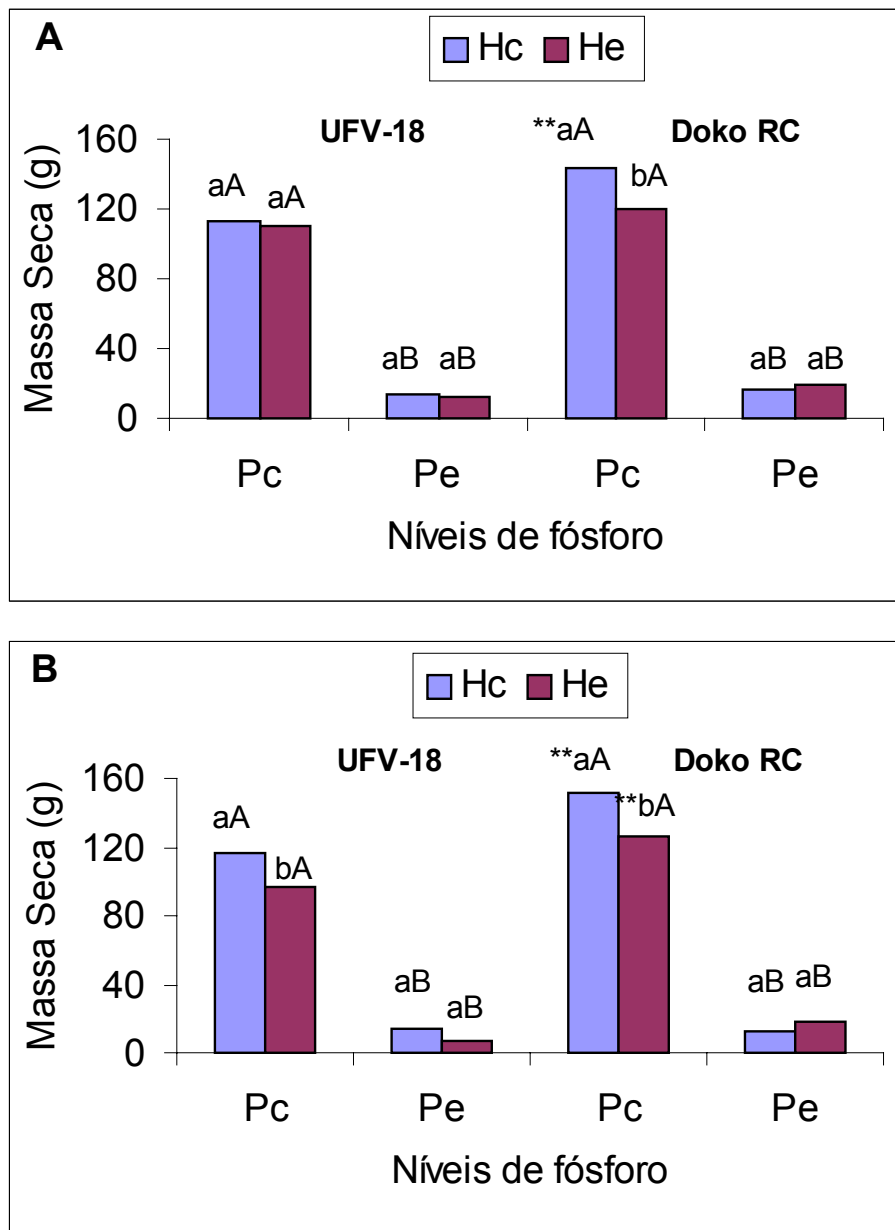


Figura 16 - (A) Massa seca da parte aérea de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

3.4. Efeito do restabelecimento da hidratação nos parâmetros de intercâmbio do carbono

Após dois dias do retorno da irrigação, os potenciais hídricos das plantas voltaram aos níveis encontrados antes da implantação do *deficit* hídrico (Figura 2). Com isso, a taxa fotossintética líquida, a condutância estomática, a taxa transpiratória e a razão C_i/C_a das plantas que sofreram *deficit* hídrico se recuperaram, com valores iguais aos das plantas-controle (Quadro 3), reforçando a tese de que a limitação estomática fora o fator preponderante na queda da taxa fotossintética sob *deficit* hídrico. Com efeito, quando as plantas sofrem desidratação moderada, a maquinaria fotossintética, via de regra, permanece intacta e o fechamento estomático é o principal fator de declínio na taxa fotossintética líquida (SHARKEY e SEEMANN, 1989; CORNIC, 2000). Em adição, conforme KAISER (1987), os efeitos de *deficits* hídricos moderados (até 50% do teor relativo de água), são rapidamente revertidos após reirrigação.

Comparando-se os níveis de fósforo, após a reirrigação, tanto as plantas de H_C quanto aquelas de H_E apresentaram menor taxa fotossintética no menor nível de fósforo (Quadro 3). Além disso, todas as plantas apresentaram maior relação C_i/C_a no nível menor de fósforo (Quadro 3), efeitos que não puderam ser observados quando essas plantas encontravam-se desidratadas e com baixíssimas taxas fotossintéticas.

3.5. Efeito do restabelecimento da hidratação nos teores dos pigmentos foliares, fósforo inorgânico e proteínas solúveis totais

Os teores de clorofilas *a*, *b* e total mantiveram-se nos mesmos níveis em que se encontravam sob deficiência hídrica (Quadro 4), comprovando mais uma vez que essas moléculas não foram responsáveis pela queda da taxa fotossintética sob condições de *deficit* hídrico.

Quadro 3 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) na taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), na condutância estomática ao vapor d'água (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e na razão entre concentrações interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) de plantas de soja, após o restabelecimento da hidratação normal

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
A	P_C	9,86 aA	9,00 aA	10,47 aA	10,42 aA
	P_E	4,01 bA	3,60 bA	4,29 bA	3,41 bA
g_s	P_C	0,38 aA	0,40 aA	0,56 aA	0,57 aA
	P_E	0,29 aA	0,23 bA	0,59 aA	0,38 bB
E	P_C	5,36 aA	5,30 aA	6,04 aA	6,07 aA
	P_E	5,33 aA	5,01 aA	5,13 bA	4,66 bA
C_i/C_a	P_C	0,706 bA	0,721 bA	0,733 bA	0,739 bA
	P_E	0,813 aA	0,822 aA	0,864 aA	0,887 aA

Efeito de Cultivares								
	$P_C H_C$		$P_C H_E$		$P_E H_C$		$P_E H_E$	
	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC
A				*				
g_s		*		*		*		*
E		*		*				
C_i/C_a						*		*

Nas colunas, para cada característica, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey.

* média significativamente maior pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

Quadro 4 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) nos teores de clorofila *a*, *b* e total ($\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$) sobre as plantas de soja, após o restabelecimento da hidratação normal

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
Chl <i>a</i>	P_C	5,68 aA	5,01 aA	6,97 aA	6,40 aA
	P_E	5,31 aA	5,00 aA	4,28 bA	3,57 bA
Chl <i>b</i>	P_C	1,35 aA	1,24 aA	1,56 aA	1,46 aA
	P_E	1,30 aA	1,26 aA	1,03 bA	0,91 bA
Chl total	P_C	7,03 aA	6,25 aA	8,53 aA	7,86 aA
	P_E	6,61 aA	6,26 aA	5,32 bA	4,48 bA

Efeito de Cultivares								
	$P_C H_C$		$P_C H_E$		$P_E H_C$		$P_E H_E$	
	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC
Chl <i>a</i>		*		*	*		*	
Chl <i>b</i>					*		*	
Chl total		*		*	*		*	

Nas colunas, para cada característica, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey.

* média significativamente maior pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

Com relação ao teor de ortofosfato, nas plantas cultivadas no nível mais alto de fósforo, o restabelecimento da irrigação provocou uma maior absorção de Pi pelas plantas de H_E, fazendo com que o nível foliar desse elemento fosse maior nessas plantas (Figura 5B). Semelhantemente às medições realizadas nas plantas sob *deficit* hídrico, os teores de ortofosfato foram menores nas plantas do tratamento P_E (Figura 5B).

Com a retomada da hidratação das plantas, os teores de proteínas solúveis totais mantiveram-se nos mesmos níveis, inexistindo diferenças entre os diversos tratamentos (Figura 6B).

3.6. Efeito do restabelecimento da hidratação na partição do carbono fotoassimilado e massa seca das plantas

Comparando-se as plantas de H_C com aquelas de H_E, verificou-se que os teores de todos os açúcares foram semelhantes, para as duas cultivares, nos dois níveis de fósforo, com exceção dos menores teores de amido nas plantas que sofreram deficiências combinados (P_EH_E) (Figuras 7B, 10B, 11B e 12B). Esse comportamento mostra mais uma vez que o padrão de fixação do carbono fotossintético e a utilização dos fotoassimilados voltaram a ser os mesmos após os dois dias da retomada da irrigação. Os menores teores de amido parece ser resultado da menor taxa de síntese, provavelmente em razão da menor atividade da *pirofosforilase do ADPG* (Figuras 8B e 9B). Apesar de a relação amido/açúcares não-redutores ter aumentado nas plantas de H_E, independentemente do nível de fósforo no solo, quando do retorno da irrigação, nas plantas do UFV-18 (tratamento P_C) e nas de Doko RC (tratamento P_E), aquela relação continuou menor nas plantas que sofreram *deficit* hídrico com posterior recuperação (Figura 14B). Em adição, os níveis de CNE dos tratamentos P_E não foram restabelecidos (Figura 13B).

A redução do crescimento das plantas em função da deficiência de fósforo parece justificar o maior teor de amido das mesmas (Figura 7B), embora

a atividade da *pirofosforilase do ADPG* tenha aumentado apenas no cultivar UFV-18 (Figuras 8B e 9B). Os teores de açúcares solúveis totais foram semelhantes nas plantas com níveis diferentes de fósforo (Figura 12B), aumentando, assim, as concentrações de CNE nas plantas deficientes em fósforo (Figura 13B). Os efeitos da deficiência de fósforo na partição do carbono assimilado permitem supor que a queda da taxa fotossintética, em função do *deficit* de fósforo, deveu-se, em maior parte, à redução do crescimento das plantas. Assim, devido à redução nos drenos metabólicos, como consequência do menor crescimento das plantas, deve ter ocorrido uma inibição da síntese da sacarose e acúmulo de triose-P no citosol, diminuindo ou cessando a exportação de trioses-P dos cloroplastos. Com isso, a razão 3-PGA/Pi no cloroplasto seria aumentada, favorecendo a síntese de amido. Além disso, sob condições de baixa atividade dos drenos (desfrutificação), SUWINGNYO et al (1995) verificaram que a atividade da α -amilase de soja diminuiu, o que também concorre para o aumento do teor de amido.

A recuperação do metabolismo do carbono nas plantas que sofreram *deficit* hídrico e posterior reidratação não se refletiu na matéria seca das folhas e da parte aérea das plantas do tratamento P_C, que permaneceram menores (Figuras 15B e 16B).

À semelhança da medição realizada quando as plantas estavam sob *deficit* hídrico, a matéria seca das plantas deficientes em fósforo foi bem menor que a das plantas cultivadas em P_C (massa seca foi 9,4 e 8,0 vezes maior nas folhas e 10,6 e 9,3 vezes maior na parte aérea das plantas de UFV-18 e Doko RC cultivadas no nível mais alto de fósforo, respectivamente) (Figuras 15B e 16B).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Os efeitos das deficiências hídrica e de fósforo, isoladas ou simultaneamente, sobre as características fotossintéticas e de intercâmbio do carbono, sobre os teores de pigmentos foliares e o crescimento das plantas foram estudados em plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Para tal, plantas de soja foram crescidas em vasos contendo solo e areia, na proporção de 2:1 (v:v), adubados com 25 mg (deficiente) e 250 mg (controle) de P dm⁻³ de substrato. Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento R3, o *deficit* hídrico foi implementado. Para isso, a irrigação foi suspensa, permanecendo assim até o momento das análises. Um segundo grupo de plantas voltou a receber irrigação por dois dias, até recuperarem o estágio hídrico inicial, momento em que as análises foram realizadas. Verificou-se redução da taxa fotossintética líquida sob deficiências de água e de fósforo. A condutância estomática ao vapor d'água e a taxa transpiratória sofreram diminuição e a razão C_i/C_a aumentou com o *deficit* hídrico. Sob deficiência de fósforo houve também, aumento na relação C_i/C_a . Os teores de clorofilas não foram alterados pelo *deficit* hídrico e sofreram redução no cultivar Doko RC com o *déficit* de fósforo. O teor de Pi foliar foi

drasticamente reduzido nas plantas deficientes em fósforo e, apenas nas plantas cultivadas no nível mais alto de fósforo, houve redução de Pi com a implantação do *deficit* de água. Os teores de proteínas solúveis totais não foram modificados com os estresses. Com o *deficit* hídrico, o teor de amido foliar foi reduzido, resultado, provavelmente, de uma maior atividade de degradação, uma vez que os teores de açúcares solúveis totais aumentaram e a atividade da *pirofosforilase do ADPG* não foi diminuída. Os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais foram aumentados em função da deficiência hídrica. Sob *deficit* de fósforo, os teores de amido foliar e a atividade da *pirofosforilase do ADPG* foram aumentados. De uma maneira geral, os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais não foram alterados pela deficiência de fósforo. A relação amido/açúcares não-redutores diminuiu com o *deficit* hídrico e aumentou com o *deficit* de fósforo, exceto nas plantas de UFV-18 que sofreram também deficiência de água. Redução da massa seca das folhas e da parte aérea das plantas, em função do *deficit* hídrico, só foi encontrada nas plantas de Doko RC cultivadas no nível mais alto de fósforo. Nas plantas submetidas a *deficit* de fósforo, ocorreram reduções acentuadas daqueles parâmetros. A análise em conjunto do padrão de acúmulo dos fotoassimilados e do padrão de crescimento das plantas submetidas a *deficit* de fósforo sugere que a queda na taxa fotossintética dessas plantas deveu-se, em maior parte, à redução do crescimento das mesmas. Com a retomada da irrigação, houve recuperação da taxa fotossintética líquida, da condutância estomática, da taxa transpiratória e da relação C_i/C_a , com valores iguais aos das plantas-controle. Também, os teores de todas as classes de açúcares analisados foram semelhantes após a reirrigação, com exceção das plantas que sofreram deficiências combinadas. Estes resultados sugerem que o padrão de fixação do carbono fotossintético e a utilização dos fotoassimilados voltaram a ser os mesmos após a retomada da irrigação e reforçam a idéia de que a limitação estomática foi o fator preponderante na queda da taxa fotossintética líquida das plantas submetidas a *deficit* hídrico. Os efeitos do *deficit* de fósforo não foram modificados após a reirrigação, o que parece

confirmar a hipótese de retroinibição da fotossíntese devido o acúmulo de carboidratos.

CAPÍTULO 2

FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIAS HÍDRICA E DE FÓSFORO

1. INTRODUÇÃO

As plantas podem apresentar respostas fotossintéticas diferenciais quando submetidas ao *deficit* hídrico. Apesar de o estresse hídrico afetar várias etapas do processo fotossintético, os passos de absorção e transferência da energia luminosa em nível de fotossistemas podem não ser afetados (TERJUNG et al., 1997). Quando o teor relativo de água é reduzido para valores de até 70% (estresse moderado), o declínio da taxa fotossintética líquida resulta, via de regra, de limitações estomáticas, mas quando esta redução atinge valores mais baixos do que 70% (estresse severo), o declínio pode ser creditado à diminuição na taxa de transporte de elétrons e ou diminuição da atividade das enzimas do ciclo de Calvin (CHAVES, 1991; GIARDI et al., 1997). Segundo SACCARDY et al. (1998), a eficiência quântica do fotossistema II (FSII) só é reduzida quando o

teor relativo de água cai para valores menores do que 60%, ou seja, sob condições de *deficit* hídrico severo.

Para LAURIANO et al. (1997), o fechamento estomático não pode ser considerado como o único fator limitante da fotossíntese em plantas submetidas a *deficit* hídrico moderado, pois em várias espécies, não ocorre diminuição da concentração de CO₂ nos espaços intercelulares, mesmo havendo fechamento estomático. Segundo esses autores, em amendoim a deficiência hídrica reduziu a fotossíntese mesmo em condições saturantes de CO₂ interno, indicando que os efeitos foram de natureza não-estomática. SANCHEZ-RODRIGUEZ et al. (1997) observaram que o decréscimo da fotossíntese sob condições de *deficit* hídrico pode ser decorrente do suprimento inadequado de NADP⁺, ADP e Pi, e ou à baixa ativação das enzimas do ciclo de Calvin moduladas pela luz ou aos altos potenciais redox e de fosforilação que são encontrados sob essa condição. Além disso, foram encontrados outros efeitos do *deficit* hídrico sobre os fotossistemas, tais como degradação das proteínas D1 e D2 pertencentes aos centros de reação do FSII (HE et al., 1995) e aumento na transformação da energia luminosa em energia calorífica (BIEHLER et al., 1996). Conforme HAVAUX (1992), inibição das reações fotoquímicas devido ao *deficit* hídrico seria resultado de fotoinibição ou de um artefato gerado pela preparação de cloroplastos isolados.

O efeito da deficiência de ortofosfato nas reações fotoquímicas da fotossíntese é também motivo de controvérsia. Alguns autores (ABADIA et al., 1987; LIMA et al., 1999), preconizam que a deficiência de fósforo praticamente não afeta a eficiência quântica do FSII, enquanto que outros (PLESNICAR et al., 1994; RODRIGUEZ et al., 2000) acham que a deficiência de fósforo causa decréscimo naquele parâmetro. De acordo com os últimos autores, a fotossíntese sob condições limitantes de fósforo é regulada tanto em nível de absorção da energia luminosa nos tilacóides, quanto pelas enzimas do metabolismo do carbono.

Em virtude da redução da fotossíntese provocada por estresses ambientais, o consumo de energia pelo ciclo de Calvin decresce e o excesso da energia radiante tem que ser dissipado, para não provocar danos irreversíveis aos fotossistemas. Essa dissipação se faz de várias maneiras: a energia luminosa pode ser usada na refixação do CO₂ fotorrespirado, como observado em girassol (SCHEUERMANN et al., 1991), em reações tipo Mehler, predominantes em feijão (CORNIC et al., 1989), na dissipação térmica pelo ciclo das xantofilas e inativação do FSII devido a mudanças estruturais em seus centros de reação (MAURY et al., 1996). Pode, ainda, ser dissipada em mecanismos alternativos como aumento da atividade da enzima desidrogenase do malato dependente de NADP⁺ (BIEHLER et al., 1996). Essas dissipações da energia radiante constituem-se em mecanismos de grande importância para a sobrevivência das plantas. Quando as plantas estão submetidas a altas irradiâncias e operam com baixas taxas fotossintéticas, menos de 10% da energia radiante absorvida pelas mesmas é utilizada na fotossíntese (quando operando em alta taxa fotossintética, essa utilização pode chegar a 50%) e, portanto, a energia excedente deve ser dissipada. Muitas evidências apontam os complexos coletores de luz (LHC) do FSII e, em menor escala, do FSI, como os principais locais de dissipação dessa energia (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996). Todos esses mecanismos dissipativos da energia radiante participam do chamado coeficiente de dissipação não-fotoquímico (qNP), parâmetro que pode ser avaliado com o uso de um fluorômetro de luz modulada.

Este trabalho teve por objetivo caracterizar os parâmetros fotoquímicos em plantas de soja submetidas a deficiências hídrica e de fósforo, isoladamente e em conjunto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material Vegetal e Condições de Cultivo

Vide capítulo 1.

2.2 - Tratamentos

Vide capítulo 1.

2.3 - Determinação do potencial hídrico

Vide capítulo 1.

2.4 - Medidas de fotossíntese e fluorescência da clorofila

A assimilação líquida de CO₂ (A) foi medida em um analisador de gás no infravermelho (LCA-2, ADC, Hoddesdon, UK), em sistema aberto, com fluxo de ar de 300 mL min⁻¹. As medições foram realizadas nos dois folíolos adjacentes da segunda folha superior totalmente expandida, utilizando radiação artificial saturante (fluxo de fótons de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), sob condições de umidade

relativa do ar e temperatura ambientes. As leituras foram sempre realizadas entre 10:00 h e 12:00 h.

A fluorescência da clorofila foi monitorada com um medidor de fluorescência de luz modulada (FMS2, Hansatech, Norfolk, UK). Após 30 minutos de adaptação ao escuro, as folhas foram expostas a luz vermelha-distante de baixa intensidade ($<2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e realizou-se a medição da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, aplicou-se um pulso saturante de $15.300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,7 segundos para a máxima redução de Q_A , quando a fluorescência é máxima (F_m). Em seqüência, a luz actínica foi ligada ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para obtenção da fluorescência constante (F_s) e, após 180 segundos, novo pulso saturante foi aplicado ($15.300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8 segundos) e a fluorescência máxima adaptada à luz (F_m') mensurada. Posteriormente, a luz actínica foi desligada e a vermelha-distante novamente ligada para medição da fluorescência inicial adaptada à luz (F_0'). O aparelho estimou a razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_m), a eficiência quântica dos FSII mantidos iluminados (ϕFSII) (GENTY et al., 1987), a eficiência fotoquímica dos FSII abertos (F_v'/F_m'), a dissipação de energia pelos fotossistemas [coeficiente de extinção fotoquímico (qP)], a dissipação não fotoquímica [coeficiente de extinção não fotoquímico (qNP)] e a dissipação não fotoquímica alternativa [dissipação Stern-Volmer (NPQ)].

2.5 - Frações de fósforo

A fração de fósforo inorgânico foi determinada nos mesmos folíolos utilizados para a determinação dos parâmetros fotossintéticos. A extração foi realizada, utilizando-se o método proposto por PEREIRA (1992); a quantificação seguiu a metodologia descrita por LINDEMAN (1958), dosando-se o complexo "azul de molibdênio", a 720 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito das deficiências de fósforo e de água na taxa fotossintética líquida

No dia da implementação do *deficit* hídrico, época em que as plantas atingiram o estágio R₃, todas apresentaram o mesmo potencial hídrico, independentemente do nível de fósforo (Figura 1).

No momento da imposição do *deficit* hídrico, as taxas fotossintéticas líquidas (*A*) foram iguais dentro de cada nível de fósforo (P_C - 250 mg P dm⁻³ e P_E - 25 mg P dm⁻³), como se verifica na Figura 2. No nível de fósforo mais baixo, a taxa fotossintética foi menor, comparada com o nível mais alto (Figura 2), resposta semelhante à encontrada em girassol por PLESNICAR et al. (1994), em girassol e milho por JACOB (1995), em *Trifolium* por ALMEIDA (2000) e em *Lupinus mutabilis* por PASSARINHO (2000).

Quando o potencial hídrico foliar decresceu para valores entre -0,5 e -1,0 MPa (H_E) (Figura 1), ocorreu drástica redução da taxa fotossintética líquida das duas cultivares, independente do nível de fósforo em que as mesmas foram cultivadas (Figura 2). O teor de fósforo inorgânico foliar também decresceu com o *deficit* de fósforo no solo (Figura 3A). Após a imposição do *deficit* hídrico, a

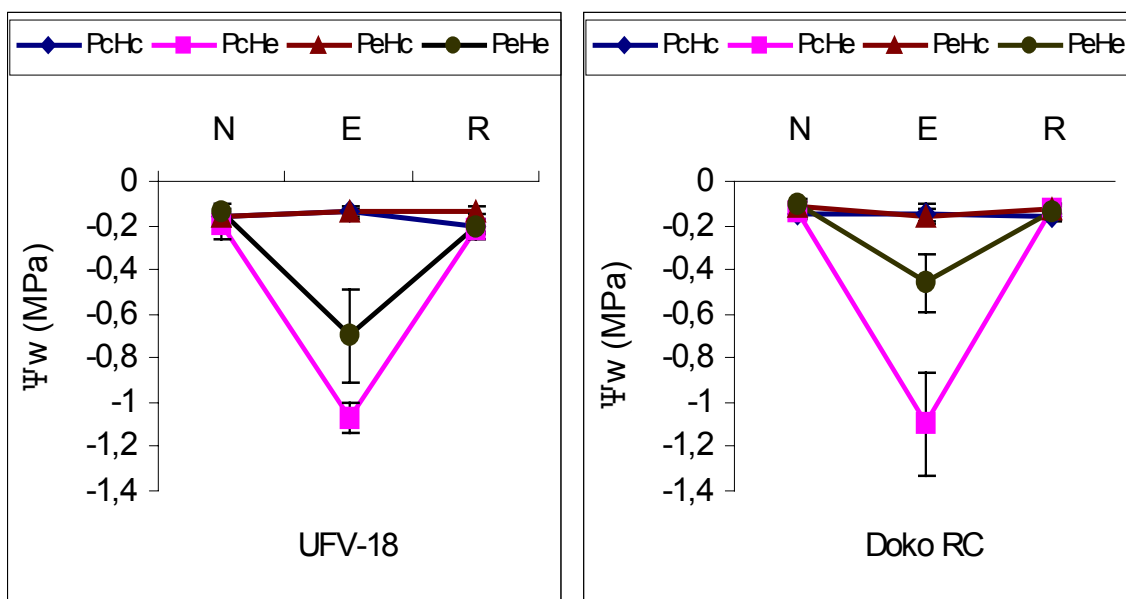


Figura 1 - Potencial hídrico (Ψ_w) das plantas de soja cultivadas sob condições normais ($P_C H_C$), de *deficit* hídrico ($P_C H_E$), de *deficit* de fósforo ($P_E H_C$) e de *deficits* hídrico e de fósforo ($P_E H_E$). N - início da imposição do *deficit* hídrico; E - máximo *deficit* hídrico; R - final da recuperação do *deficit* hídrico; P_C e $P_E = 250$ e 25 mg P dm^{-3} , respectivamente; H_C e $H_E =$ plantas não submetidas e submetidas a *deficit* hídrico, respectivamente. As barras representam o desvio padrão da média

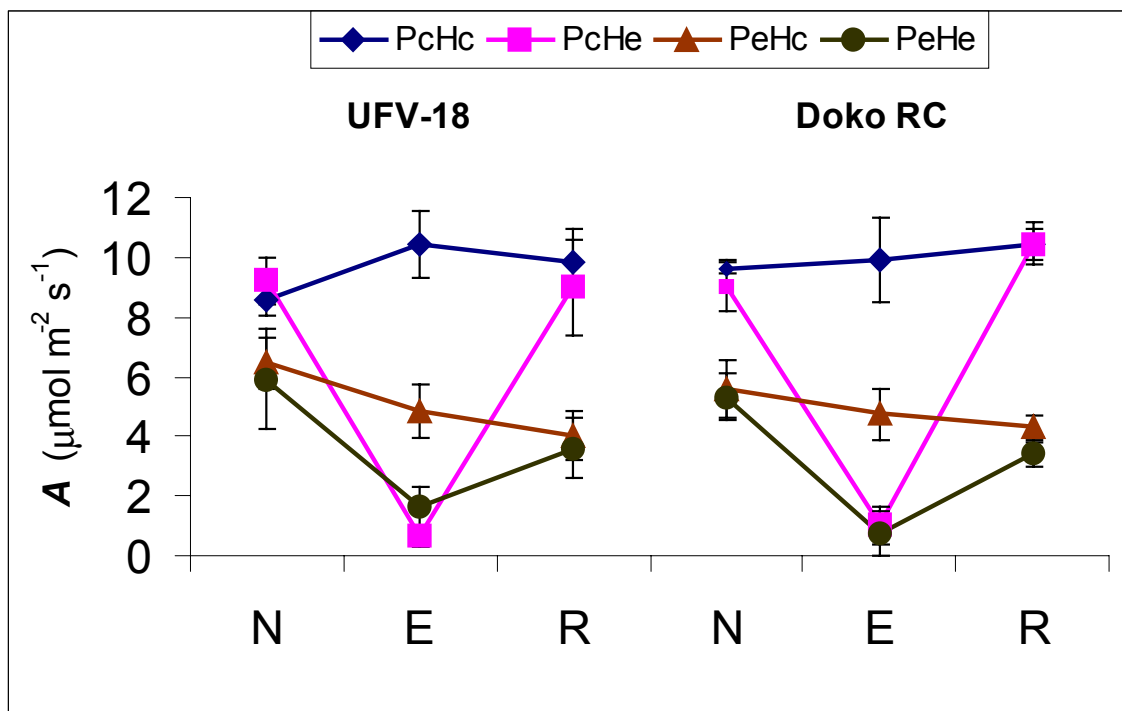


Figura 2 - Taxa fotossintética líquida (A) de plantas de soja cultivadas sob condições normais ($P_C H_C$), de *deficit* hídrico ($P_C H_E$), de *deficit* de fósforo ($P_E H_C$) e de *deficits* hídrico e de fósforo ($P_E H_E$). N - início da imposição do *deficit* hídrico; E - máximo *deficit* hídrico; R - final da recuperação do *deficit* hídrico; P_C e $P_E = 250$ e 25 mg P dm^{-3} , respectivamente; H_C e H_E = plantas não submetidas e submetidas a *deficit* hídrico, respectivamente. As barras representam o desvio padrão da média

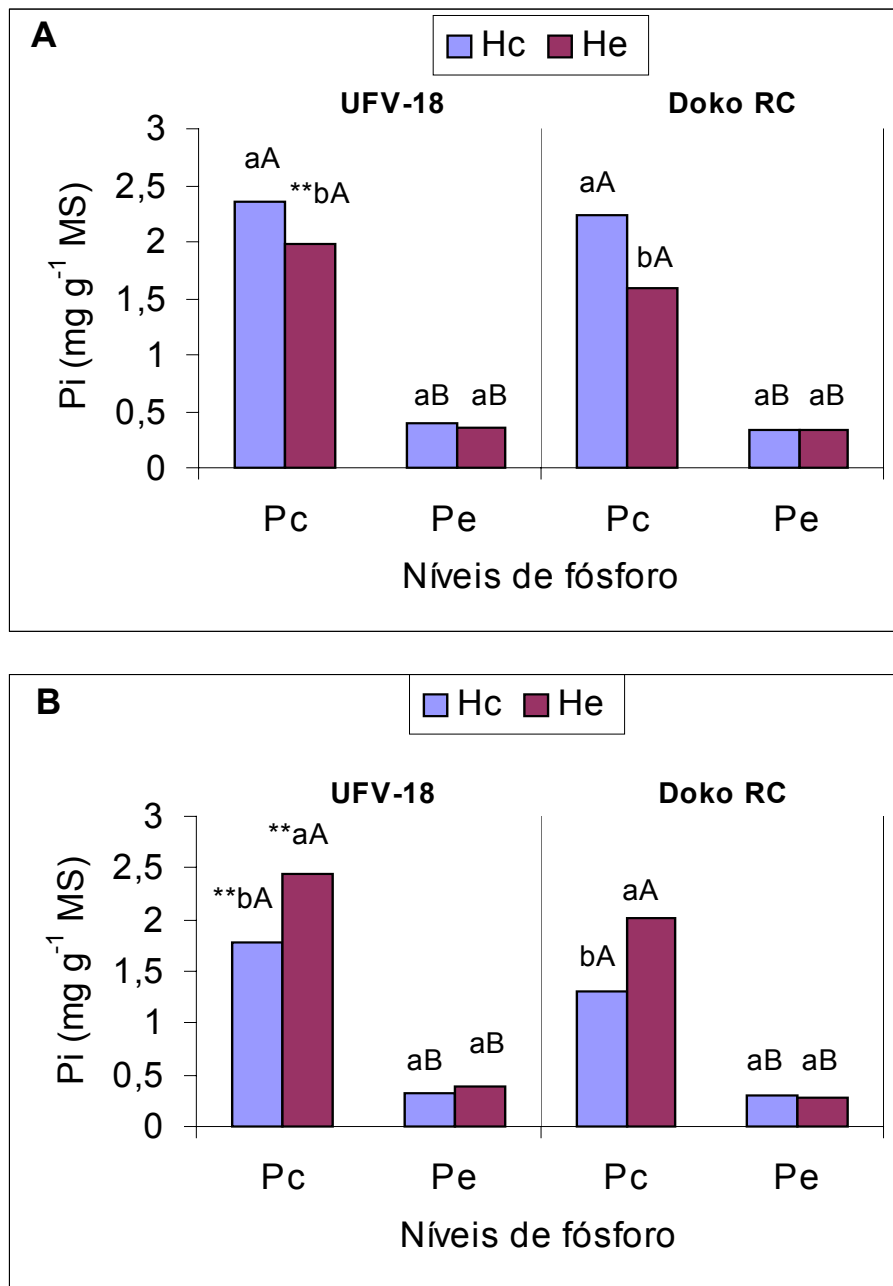


Figura 3 - (A) Teor de ortofosfato (Pi) foliar em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

fotossíntese das plantas cultivadas em $P_E H_C$ foram menores que a das plantas cultivadas em $P_C H_C$. Entretanto, essa diferença não foi observada nas plantas deficientes em água ($P_C H_E$ e $P_E H_E$), uma vez que, independente do nível de fósforo, a taxa fotossintética líquida foi muito baixa (Figura 2).

3.2. Efeito das deficiências de fósforo e de água na eficiência quântica do fotossistema II

A queda da taxa fotossintética líquida em função do déficit hídrico (Figura 2) não foi acompanhada por decréscimo na eficiência fotoquímica intrínseca do fotossistema II (FSII), medida pela razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_m), exceto quando houve interação com o *deficit* de fósforo (Quadro 1), mostrando que o FSII é resistente ao estresse hídrico, como já observado em algodão (GENTY et al., 1987), em café (DA MATTA et al., 1997) e em *Casuarina equisetifolia* (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 1997). Entretanto, danos fotoinibitórios ao FSII foram encontrados por HE et al. (1995), que verificaram degradação das proteínas D1 e D2 (principalmente D2) em plantas de trigo sob *deficit* hídrico. Por outro lado, para as duas cultivares e nos dois níveis de água no solo, a deficiência de fósforo provocou redução de F_v/F_m (Quadro 1), exceto nas plantas de UFV-18 mantidas irrigadas. Decréscimo de F_v/F_m associado a aumento de F_0 foi registrado apenas quando houve interação das deficiências nas plantas de Doko RC (Quadro I), indicando que, nessa situação, pode ter ocorrido separação irreversível do complexo coletor de luz (LHCII) do complexo central do FSII (YAMANE et al., 1998) e/ou degradação da proteína D1 do núcleo do FSII (JACOB e LAWLOR, 1993; LAURIANO et al., 1997). A dissipação da energia radiante devido à fotoinibição (q_I) é o maior componente do q_{NP} em plantas sob *deficit* de fósforo (JACOB, 1995), o que explicaria a redução de F_v/F_m nessas plantas. Segundo OQUIST et al. (1992), quando q_P decresce a valores abaixo de 0,6, ocorre aumento da fotoinibição. No presente trabalho, nas plantas submetidas simultaneamente aos dois estresses, o

Quadro 1 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg de P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) na razão da fluorescência variável/máxima (F_v/F_m), na razão F_v'/F_m' , na eficiência quântica efetiva do FSII (ϕFSII), na dissipação não fotoquímica ($1 - \phi\text{FSII}$), no coeficiente de extinção fotoquímico (qP), no coeficiente de extinção não-fotoquímico (qNP), no coeficiente de extinção não-fotoquímico alternativo (NPQ) e na fluorescência inicial (F_0) de plantas de soja

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
F_v/F_m	P_C	0,851 aA	0,856 aA	0,858 aA	0,846 aA
	P_E	0,836 aA	0,789 bB	0,821 bA	0,771 bB
F_v'/F_m'	P_C	0,805 aA	0,791 aA	0,759 aA	0,749 aA
	P_E	0,603 bA	0,450 bB	0,631 bA	0,512 bB
ϕFSII	P_C	0,747 aA	0,729 aA	0,674 aA	0,632 aA
	P_E	0,431 bA	0,263 bB	0,523 bA	0,341 bB
$1 - \phi\text{FSII}$	P_C	0,253 aA	0,271 aA	0,326 aA	0,368 aA
	P_E	0,569 bA	0,737 bB	0,477 bA	0,659 bB
qP	P_C	0,928 aA	0,921 aA	0,885 aA	0,843 aA
	P_E	0,713 bA	0,520 bB	0,828 aA	0,669 bB
qNP	P_C	0,326 bA	0,314 bA	0,423 bA	0,408 bA
	P_E	0,745 aA	0,828 aA	0,707 aA	0,804 aA
NPQ	P_C	0,392 bA	0,364 bA	0,575 bA	0,527 bA
	P_E	2,155 aA	2,402 aA	1,869 aA	2,362 aA
F_0	P_C	90,4 bA	117,0 aA	153,6 aA	145,6 bA
	P_E	173,8 aA	146,8 aA	168,0 aA	208,4 aA

	Efeito de Cultivares							
	$P_C H_C$		$P_C H_E$		$P_E H_C$		$P_E H_E$	
	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC
F_v/F_m								
F_v'/F_m'								
ϕFSII			*			*		
$1 - \phi\text{FSII}$			*			*		
qP						*		*
qNP								
NPQ								
F_0		*						*

Nas colunas, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey.

* média significativamente maior pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

valor de qP foi de 0,52 e 0,67 para UFV-18 e Doko RC, respectivamente (Quadro 1), reforçando a idéia de que, nessas plantas, especialmente no cultivar UFV-18, poderia ter ocorrido danos fotoinibitórios. Como nas plantas submetidas apenas ao *deficit* de fósforo o valor de qP foi superior a 0,7 e não houve aumento de F_0 concomitantemente com a diminuição de F_v/F_m , a redução desse parâmetro deve estar associada a mecanismos de dissipação não-fotoquímica da energia radiante.

Do mesmo modo que F_v/F_m , a eficiência fotoquímica efetiva, estimada pela eficiência quântica dos FSII sob iluminação (ϕ FSII), e a eficiência fotoquímica dos FSII abertos (F_v'/F_m') só foram afetadas quando o *deficit* hídrico foi acompanhado de deficiência de fósforo (Quadro 1), o que reforça a resistência do FSII à falta de água. Resultados contrastantes foram encontrados em amendoim por LAURIANO et al. (1997), que observaram redução na transferência de elétrons de P_{680} para Q_A , aumento no estágio de redução de Q_A ($1 - qP$) e redução de ϕ FSII, atribuindo esses efeitos a uma diminuição na atividade do ciclo de Calvin em virtude do fechamento estomático. Por sua vez, a análise dos efeitos dos níveis de fósforo, mostrou que houve diminuição de ϕ FSII e de F_v'/F_m' com o *deficit* de fósforo (Quadro 1). Redução da ϕ FSII em plantas de girassol cultivadas em solução nutritiva com baixo nível de fósforo foi observada por PLESNICAR et al. (1994), e, em plantas de trigo, RODRIGUEZ et al. (2000) encontraram redução de 21% e 31%, respectivamente para plantas a pleno sol e sombreadas, na eficiência do uso da radiação por plantas deficientes em P_i , em relação às plantas-controle.

Comparando-se os cultivares, não houve diferenças entre os mesmos com respeito às dissipações fotoquímica e não-fotoquímica de plantas submetidas a *deficit* hídrico (Quadro 1). Essa indiferença decorre do fato do FSII ser resistente ao *deficit* hídrico (GENTY et al., 1987; Da MATTA et al., 1997; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 1997) e os cultivares não serem contrastantes a esse tipo de estresse. Por outro lado, na análise da deficiência de fósforo, o cultivar UFV-18 apresentou queda de 23,17% da dissipação fotoquímica (qP) e aumento de 124,90% da dissipação não-fotoquímica (qNP) e o cultivar Doko RC

apresentou queda de 6,44% e aumento de 46,32% nas dissipações fotoquímica e não-fotoquímica, respectivamente. Sob deficiência combinada, esses valores foram 45,34% e 20,64% para diminuição de qP nas plantas de UFV-18 e Doko RC, respectivamente e aumento de 171,95% e 79,08% em qNP nas plantas de UFV-18 e Doko RC, respectivamente. Os dados indicam uma menor redução da eficiência fotoquímica nas plantas do cultivar Doko RC em função do *deficit* de fósforo. Esses resultados sugerem que a análise da fluorescência da clorofila pode ser utilizada como ferramenta para seleção de cultivares com resistências diferenciais a alguns estresses ambientes, fato extremamente interessante, uma vez que a técnica destaca-se por ser não-destrutiva, rápida e de custo relativamente baixo (BIN†ER et al., 1997).

3.3. Efeito das deficiências de fósforo e de água na dissipação não-fotoquímica da energia radiante

De modo semelhante ao encontrado em feijão por YORDANOV et al. (1999), qNP não foi alterado pelo *deficit* hídrico (Quadro 1). A manutenção de qNP, concomitantemente com uma quase total inibição da taxa fotossintética líquida, sugere a existência de outros aceptores terminais de elétrons, que oxidariam Q_A e seriam importantes na regulação desse transporte. Por sua vez, GIARDI et al. (1996), que observaram fosforilação do FSII (qT) e degradação de D1 (qI) em plantas sob *deficit* hídrico. A fosforilação do FSII e a degradação de D1 devem atuar como mecanismos de proteção da integridade estrutural e funcional do FSII. O qNP aumentou com a deficiência de fósforo (Quadro 1), mostrando que a energia absorvida além da necessária para a assimilação de CO_2 foi dissipada sob formas não-fotoquímicas. Além do aumento em qNP, pode ter ocorrido degradação de apoproteínas do LHCII e de clorofilas (como verificado no capítulo II), diminuindo a quantidade de elétrons capturados pelo centro de reação do FSII. O qNP é resultante de qE (dependente de um gradiente de pH no tilacóide que, por sua vez, pode ativar a formação de anteraxantina e zeaxantina),

qT (fosforilação do FSII) e qI (danos fotoinibitórios do FSII) (RUBAN e HORTON, 1995; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 1997). Os danos fotoinibitórios, responsáveis por qI, podem ser irreversíveis ou reversíveis. Embora largamente utilizado, qNP parece superestimar a dissipação não-fotoquímica, como pode ser observado pelo somatório de ϕ FSII e qNP maior que 1 e, em virtude disso, mascarar os efeitos dos estresses. Por isso, no presente trabalho, a energia não utilizada na etapa fotoquímica foi representada por $1 - \phi$ FSII que, por sua vez, apresenta forte correlação significativa com qNP (Figura 4). Por esse parâmetro, nas plantas cultivadas no nível P_E de fósforo, a deficiência hídrica provocou aumento da dissipação não-fotoquímica. O *deficit* de fósforo aumentou essa dissipação nos dois níveis de água, independentemente da cultivar utilizada (Quadro 1).

A resistência do FSII ao *deficit* hídrico pode ser comprovada pelo fato de que, apenas quando houve interação das deficiências, a dissipação térmica da energia radiante ($1 - F_v'/F_m'$) (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996) aumentou (Figura 5A). Por sua vez, a deficiência de fósforo promoveu aumento da dissipação térmica das duas cultivares em todos os níveis de água (Figura 5A).

Grande parte da dissipação térmica é resultado de alterações em qE (Figura 6A). Esse tipo de dissipação da energia radiante, que depende do gradiente de pH formado pela acidificação do canal do tilacóide e é resultado da desepoxidação da violaxantina em anteraxantina e zeaxantina, restringe a oxidação de Q_A em uma forma quase logarítmica (GENTY et al., 1987). A percentagem de qE na dissipação térmica total não variou com o *deficit* hídrico e foi maior nas plantas cultivadas em P_E (Figura 7A). Contrariamente, ITURBE-ORMAETXE et al. (1998), trabalhando com ervilha, e SACCARDY et al. (1998), com milho, encontraram decréscimo no índice de epoxidação (aumento de anteraxantina e zeaxantina) em função de *deficit* hídrico. Nos dois experimentos, o *deficit* hídrico imposto foi superior ao imposto neste experimento, o que provavelmente explicaria essa diferença em qE. O aumento de qE, em função da deficiência de fósforo, pode ser decorrente da restrição da

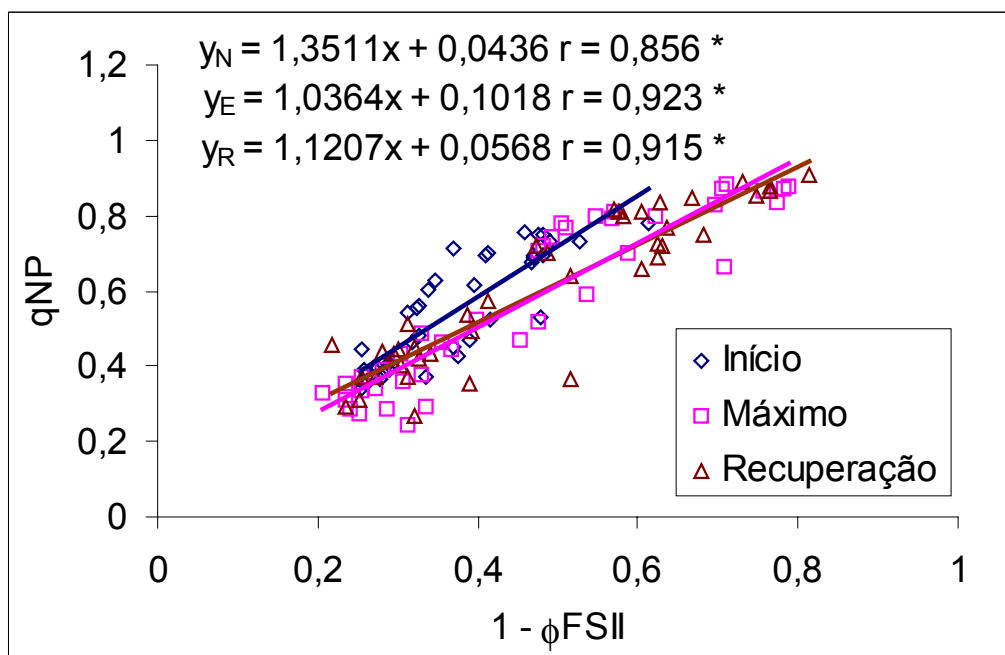


Figura 4 - Relação entre a energia não utilizada na fotoquímica ($1 - \phi_{FSII}$) e o coeficiente de dissipação não-fotoquímico (q_{NP}) de plantas de soja cultivadas em dois níveis de fósforo ($P_C - 250 \text{ mg dm}^{-3}$, $P_E - 25 \text{ mg dm}^{-3}$) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C). Y_N - início do déficit hídrico, Y_E - após a imposição do déficit hídrico e Y_R - após a recuperação do potencial hídrico inicial. * significativo pelo teste de t a $p \leq 0,001$

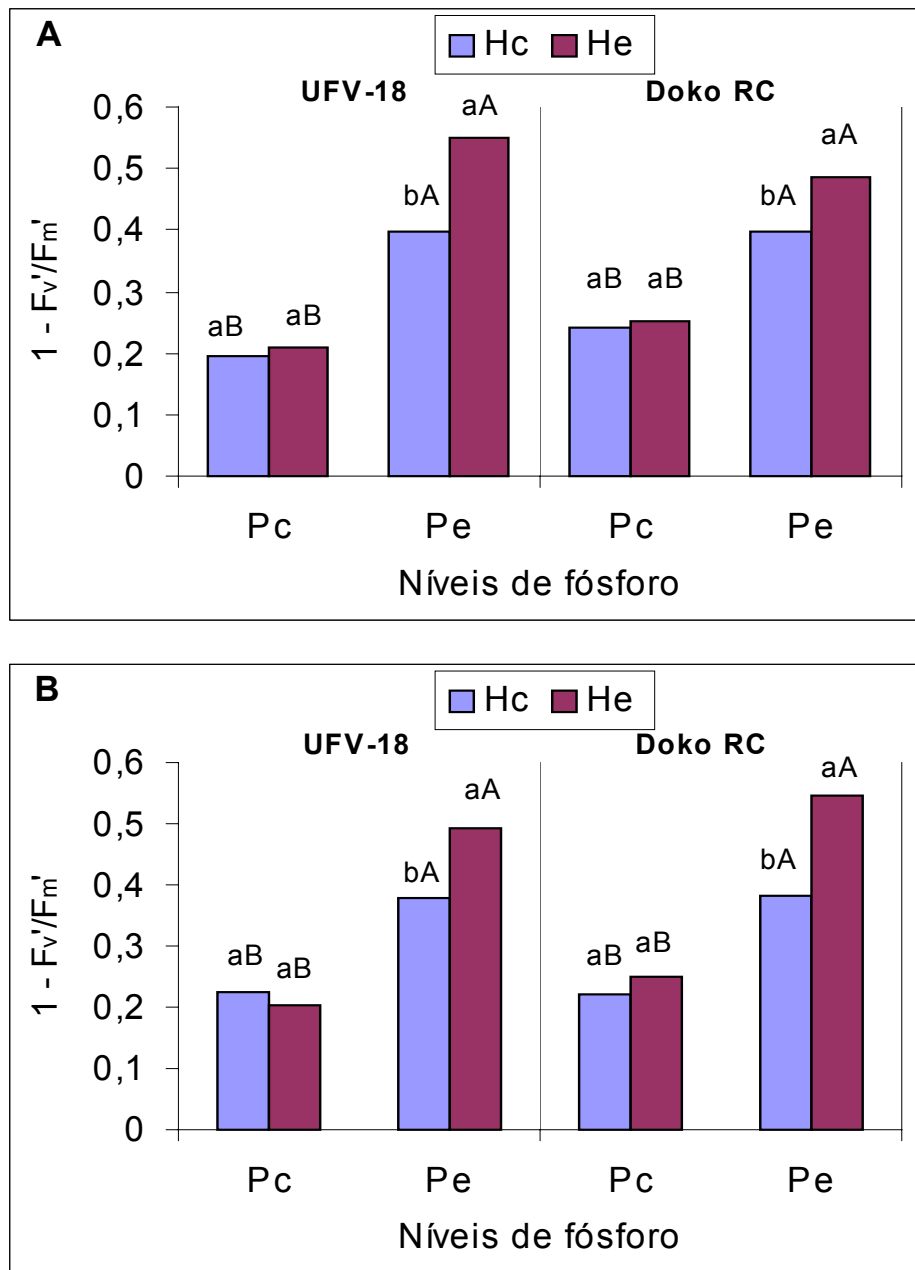


Figura 5 - (A) Dissipação térmica da energia radiante ($1 - F_v'/F_m'$) em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

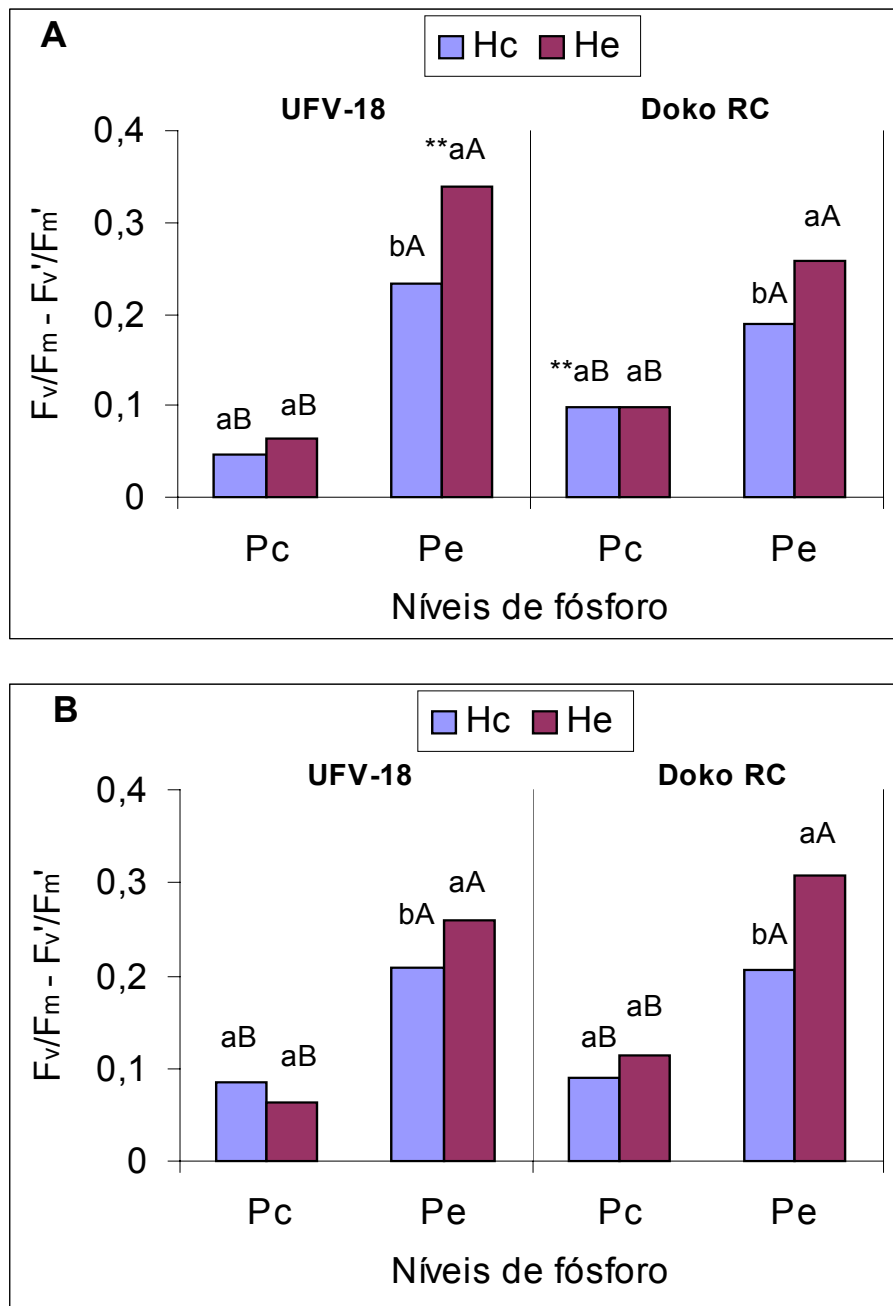


Figura 6 - (A) Dissipação térmica dependente de energia ($qE = F_v/F_m - F_v'/F_m'$) em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo ($P_C - 250 \text{ mg dm}^{-3}$, $P_E - 25 \text{ mg dm}^{-3}$), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

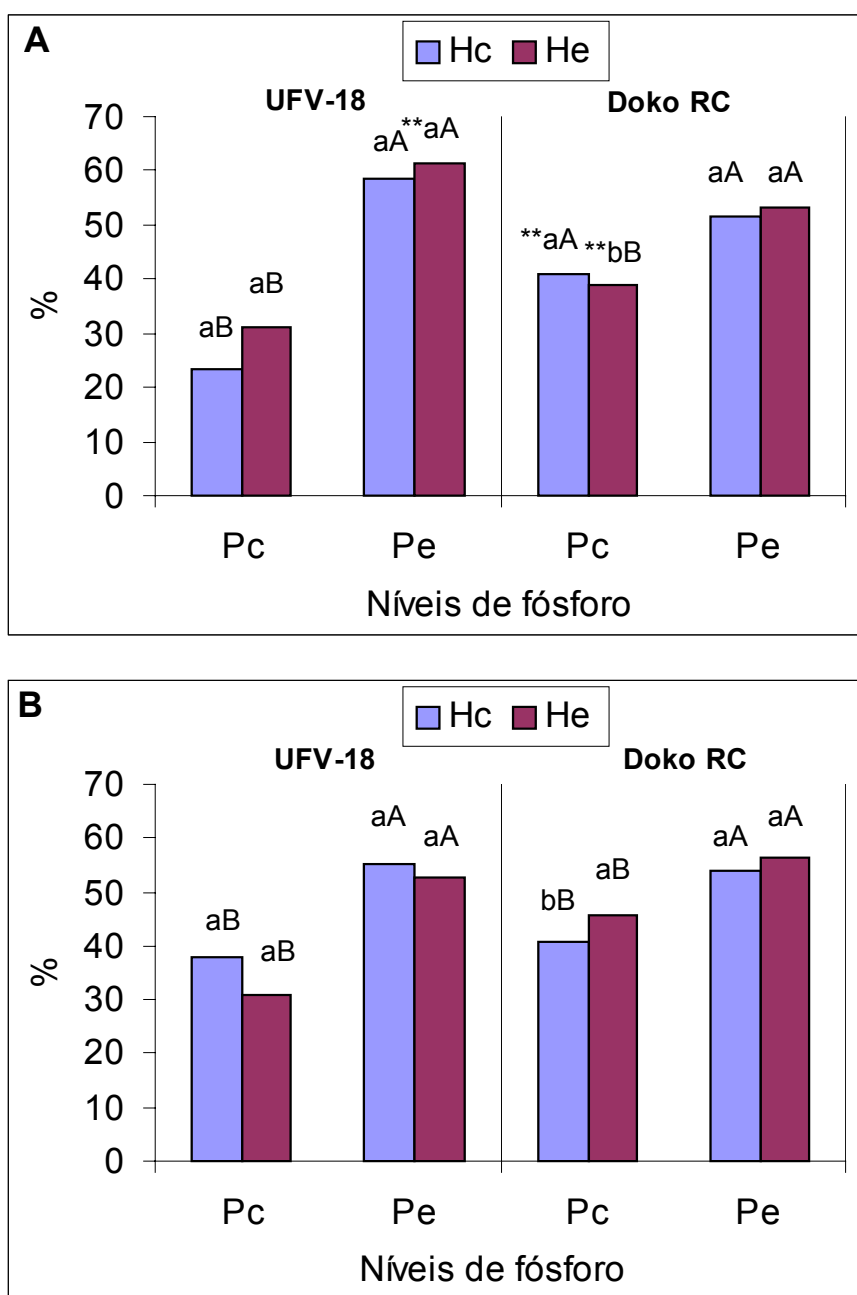


Figura 7 - (A) Percentagem da dissipação térmica dependente de energia (qE) na dissipação térmica da energia radiante ($1 - F_v'/F_m'$) em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

fotofosforilação, levando a um aumento da energização das membranas dos tilacóides (PLESNICAR et al., 1994). O qE foi calculado pela diferença entre F_v/F_m e F_v'/F_m' (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996) e não pela equação de Stern-Volmer (NPQ), uma vez que a primeira apresenta dados compatíveis com a medição da dissipação térmica ($1 - F_v'/F_m'$) e existe uma significativa correlação entre $(F_v/F_m - F_v'/F_m')$ e NPQ (Figura 8).

A fração de energia absorvida pelos centros de reação dos fotossistemas e não utilizada na produção de ATP e NADPH + H⁺ foi representada pela diferença entre F_v'/F_m' e ϕ FSII (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1996). Essa diferença está correlacionada com a relação $1 - qP$ (Figura 9) e associada ao estágio de redução de Q_A . Como pode ser observado, aumento nesse tipo de dissipação, com o *deficit* hídrico só foi encontrado no cultivar Doko RC (Figura 10A). A manutenção do transporte de elétrons, estimada pela manutenção de ϕ FSII (Quadro 1), e o aumento na redução de Q_A apenas no cultivar Doko RC (Figura 10A), associados a valores muito baixos da taxa fotossintética (Figura 2), revelam que outros processos devem utilizar a energia gerada na fase fotoquímica. Sob deficiência hídrica, ocorre fechamento estomático e diminuição da absorção de CO₂, levando a um aumento na fotorrespiração. Esse aumento auxilia a dissipação da energia gerada na fotoquímica e não utilizada diretamente na fixação do carbono, prevenindo o aparato fotossintético de danos fotoinibitórios (TAIZ e ZEIGER, 1998). Segundo MAURY et al. (1996), a capacidade de reciclar o CO₂ fotorrespirado pode ser o principal fator da alta tolerância do aparato fotossintético em nível de FSII. Por sua vez, o *deficit* de fósforo produziu aumento em $(F_v'/F_m' - \phi$ FSII), independente da cultivar e do nível de água no solo (Figura 10A). Em plantas de girassol submetidas a *deficit* de fósforo, PLESNICAR et al. (1994) também encontraram aumento na quantidade de Q_A reduzida. Esse aumento é proveniente do incremento na quantidade de centros de reação do FSII fechados, devido a não utilização do ATP e do NADPH + H⁺ pela fase bioquímica da fotossíntese. Os centros de reação fechados representam uma população do FSII que está propensa a sofrer

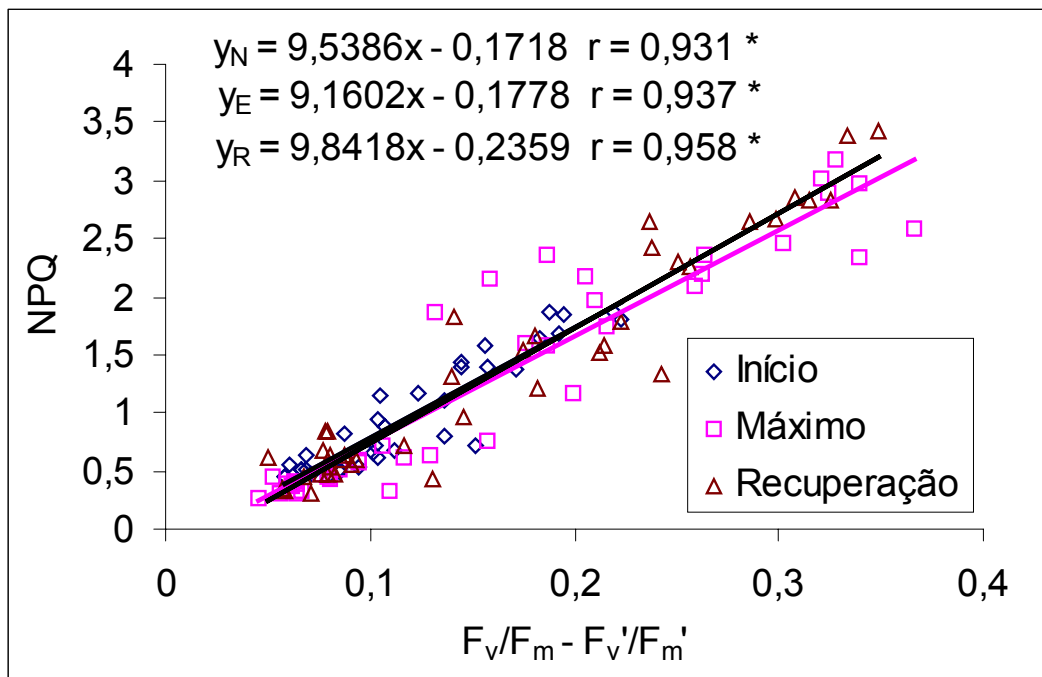


Figura 8 - Relação entre a dissipação térmica dependente de energia ($qE = F_v/F_m - F_v'/F_m'$) e o coeficiente de dissipação não-fotoquímico alternativo ou coeficiente de Stern-Volmer (NPQ) de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo ($P_C - 250 \text{ mg dm}^{-3}$, $P_E - 25 \text{ mg dm}^{-3}$) e submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C). Y_N - início do déficit hídrico, Y_E - após a imposição do déficit hídrico e Y_R - após a recuperação do potencial hídrico inicial. * significativo pelo teste de t a $p \leq 0,001$

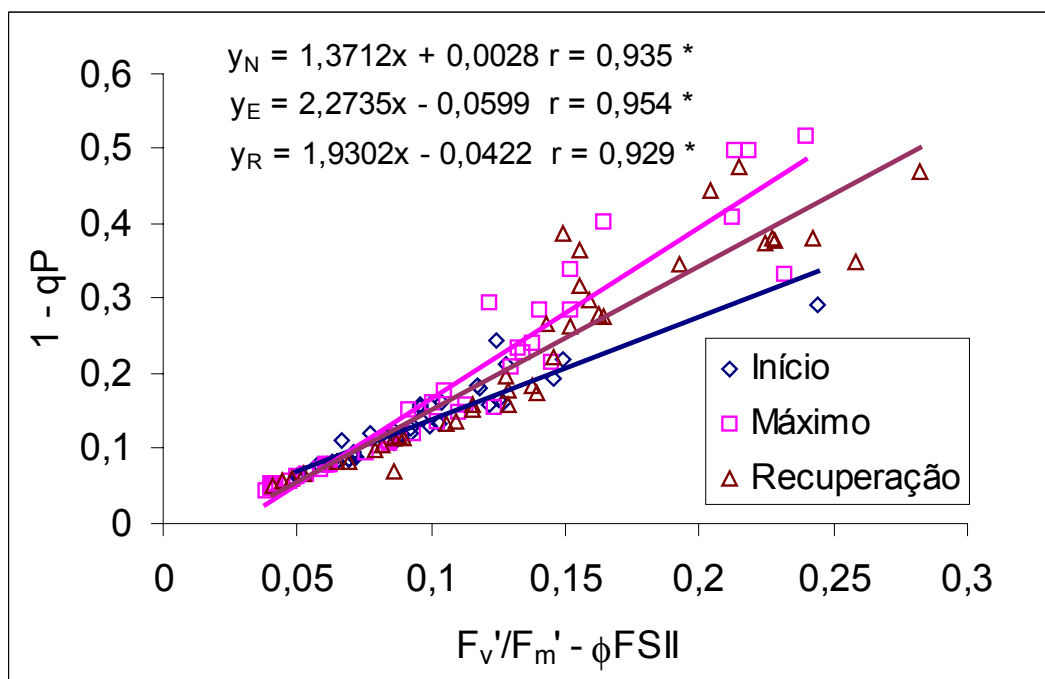


Figura 9 - Relação entre a energia absorvida pelos centros de reação dos fotossistemas e não utilizada na produção de energia fotoquímica ($F_v'/F_m' - \phi_{FSII}$) e a quantidade Q_A no estágio reduzido ($1 - qP$) de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo ($P_C - 250 \text{ mg dm}^{-3}$, $P_E - 25 \text{ mg dm}^{-3}$) e submetidas a *deficit* hídrico (H_C) ou não (H_E). Y_N - início do déficit hídrico, Y_E - após a imposição do déficit hídrico e Y_R - após a recuperação do potencial hídrico inicial. * significativo pelo teste de t a $p \leq 0,001$

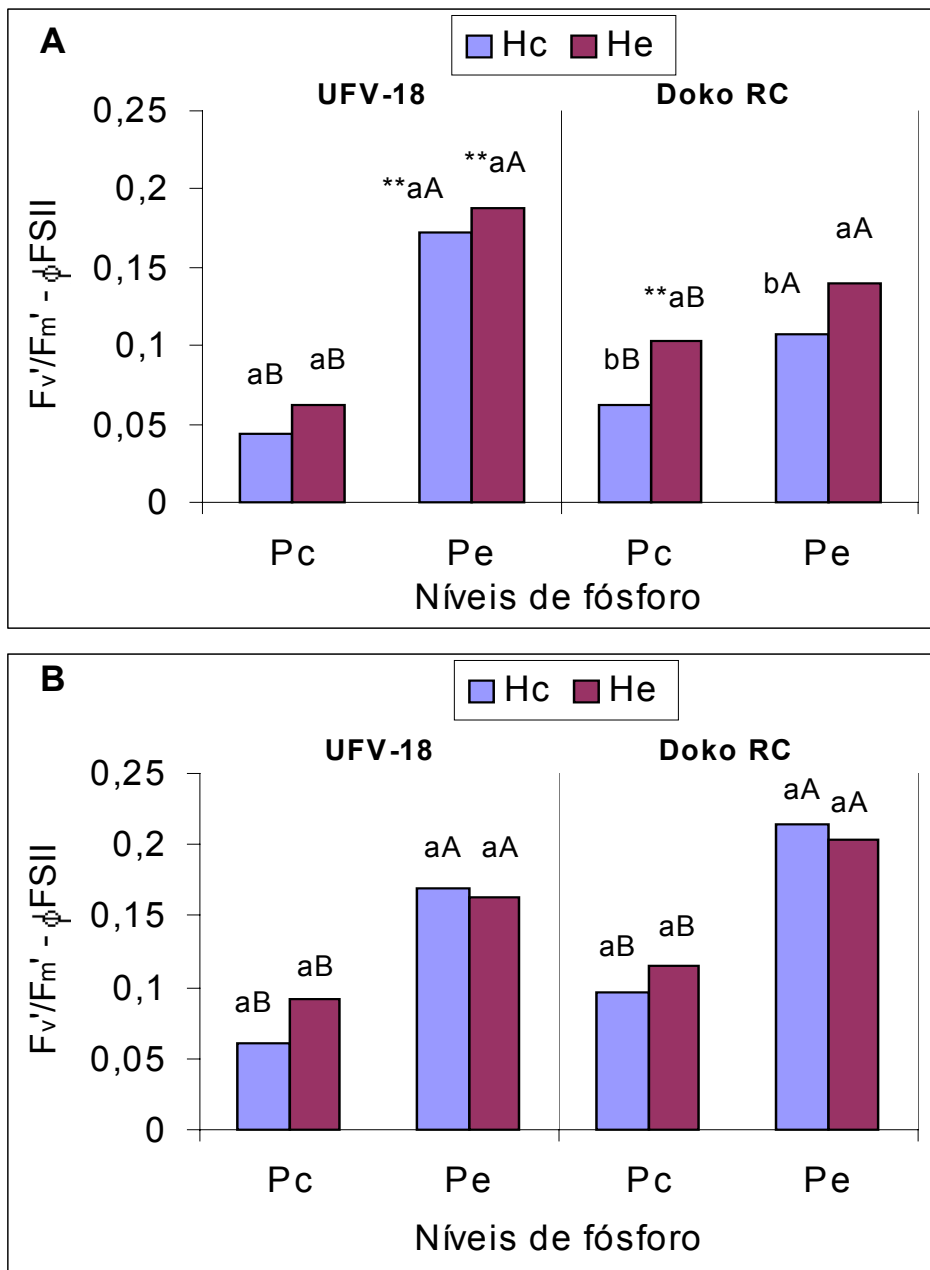


Figura 10 - (A) Fração de energia absorvida pelos centros de reação dos fotossistemas e não utilizada na produção de energia fotoquímica ($F_v/F_m' - \phi_{FSII}$) em plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm⁻³, P_E - 25 mg dm⁻³), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e recuperação (Figura B). Duas colunas com letras minúsculas iguais não diferem quanto ao nível de água dentro do mesmo nível de fósforo; colunas com duas letras maiúsculas iguais não diferem quanto ao nível de fósforo, dentro de cada nível de água. ** média significativamente maior entre as cultivares. Análises pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

danos por excesso de excitação e subsequente mudanças na proteína D1 (MAURY et al., 1996).

A Figura 11 mostra a participação relativa dos três tipos de dissipação mencionados, fotoquímica (F), térmica (T) e resultante do aumento em Q_A reduzida (I) na dissipação total da energia absorvida pelo sistema coletor da energia luminosa dos fotossistemas. Nela, pode-se observar que o *deficit* hídrico praticamente não alterou o percentual de dissipação de energia das plantas cultivadas no nível mais alto de fósforo. Nas plantas cultivadas no nível mais baixo de fósforo, o *deficit* hídrico provocou aumento na dissipação térmica e na fração da energia absorvida e não aproveitada (I) (principalmente na primeira). A deficiência de fósforo provocou aumento em I, com maior aumento no cultivar UFV-18 e um grande aumento em D, sendo esse aumento mais acentuado nas plantas submetidas a *deficits* combinados.

3.4. Efeito do restabelecimento da hidratação na taxa fotossintética líquida e na eficiência quântica do fotossistema II

Com a retomada da irrigação, as plantas recuperaram o potencial hídrico (Figura 1) e a taxa fotossintética (Figura 2). Naturalmente, as plantas dos tratamentos deficientes em fósforo continuaram apresentando menor teor de Pi (Figura 3B) e menor fotossíntese (Figura 2).

Os valores de F_v/F_m revelam que, apenas nas plantas submetidas a deficiências simultâneas de água e fósforo, essa relação foi diminuída, sugerindo, uma vez mais, que o aparato fotossintético é resistente à vários estresses ambientes e que o decréscimo em F_v/F_m apresentado pelas plantas com interação de *deficits* é de natureza crônica. Além das plantas mantidas em $P_E H_E$, as cultivadas em $P_E H_C$ do cultivar Doko RC apresentaram qP na faixa de 0,6. Isso reforça a observação de que teria ocorrido danos fotoinibitórios nessas plantas (OQUIST et al., 1992).

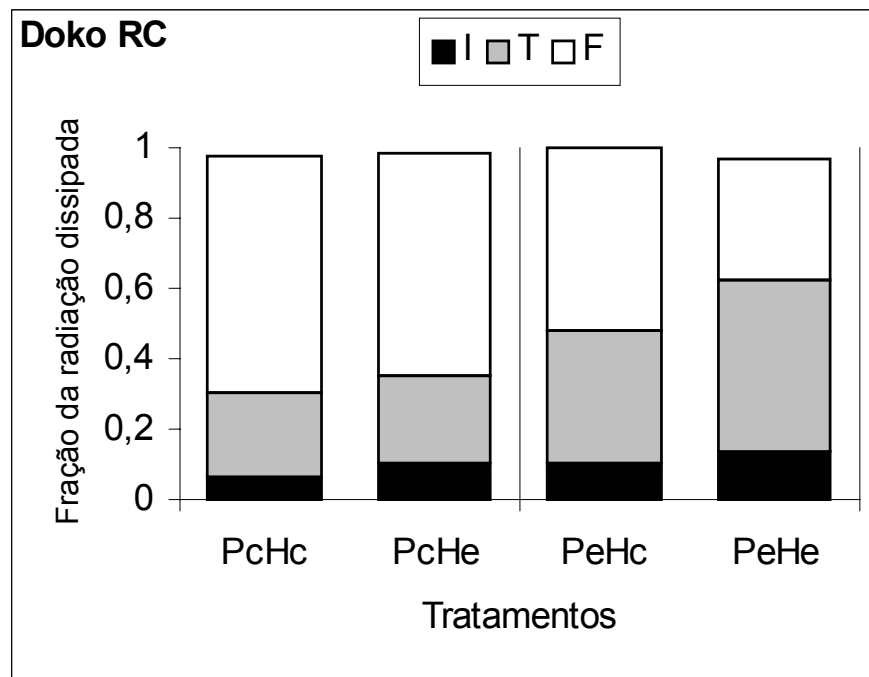
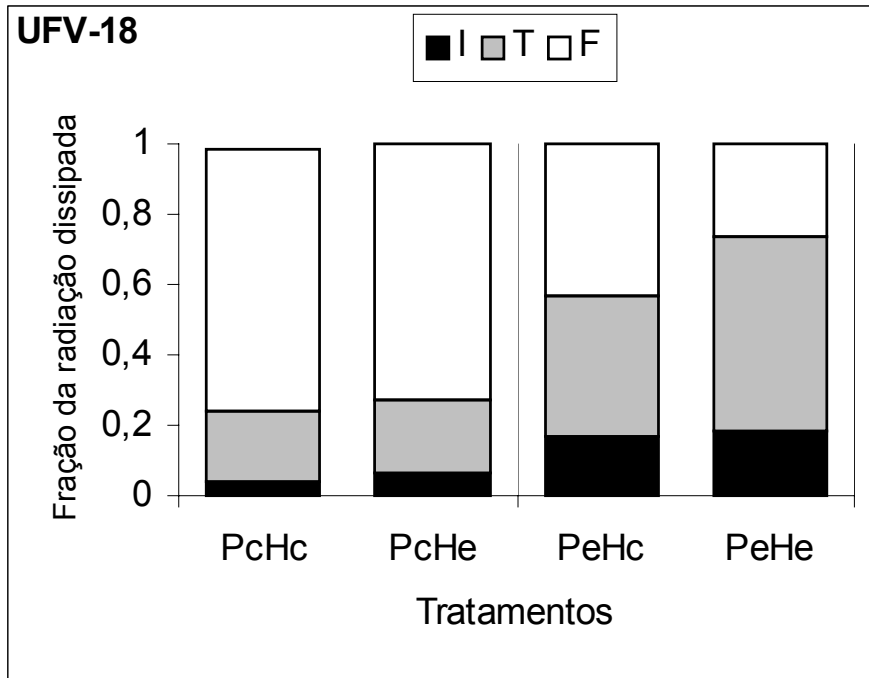


Figura 11 - Participação relativa da dissipação fotoquímica (F), térmica (T) e resultante do aumento em Q_A reduzida (I) na dissipação total da energia absorvida por plantas de soja cultivadas sob dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C)

Os valores de F_v'/F_m' e de ϕ_{FSII} não se modificaram após a reirrigação (Quadro 2), o que é perfeitamente aceitável, uma vez que apenas as plantas submetidas ao *deficit* de fósforo, isoladamente ou em combinação com o *deficit* hídrico, tinham sido afetadas. Já que não houve recuperação para essas plantas, reforça-se mais uma vez a tese de fotoinibição sofrida pelas mesmas.

3.5. Efeito do restabelecimento da hidratação na dissipação não fotoquímica da energia radiante

A análise da eficiência quântica das plantas, estimada pelos diversos parâmetros de dissipação não-fotoquímica, revelou que não houve mudança nos mesmos com a retomada da irrigação. Com exceção da recuperação dos valores de $F_v'/F_m' - \phi_{FSII}$ (estádio de redução de Q_A) das plantas de H_E do cultivar Doko RC a níveis semelhantes aos das plantas de H_C (Figura 10B), os demais parâmetros mostraram a mesma relação quando das medições sob *deficit* hídrico (Figuras 5B, 6B e 7B).

Pelo exposto, quando se observa a participação relativa dos três tipos de dissipação, nota-se que a única mudança promovida pela retomada da irrigação ocorreu na dissipação tipo I das plantas cultivadas em P_E , que antes era maior sob deficiência hídrica e voltaram a ser iguais nos dois níveis de água (Figura 12).

Quadro 2 - Efeito dos níveis de fósforo ($P_C = 250 \text{ mg P dm}^{-3}$, $P_E = 25 \text{ mg de P dm}^{-3}$) e de água ($H_C = \text{controle}$, $H_E = \text{deficit hídrico}$) na razão da fluorescência variável/máxima (F_v/F_m), na razão F_v'/F_m' , na eficiência quântica efetiva do FSII (ϕFSII), no coeficiente de extinção fotoquímico (qP), no coeficiente de extinção não-fotoquímico (qNP) e no coeficiente de extinção não fotoquímico-alternativo (NPQ) de plantas de soja, após o restabelecimento da hidratação normal

Parâmetros	Níveis de fósforo	Cultivares			
		UFV-18		Doko RC	
		Níveis de água			
		H_C	H_E	H_C	H_E
F_v/F_m	P_C	0,859 aA	0,859 aA	0,896 aA	0,865 aA
	P_E	0,830 aA	0,768 bB	0,824 aA	0,763 bB
F_v'/F_m'	P_C	0,773 aA	0,796 aA	0,779 aA	0,752 aA
	P_E	0,621 bA	0,509 bB	0,619 bA	0,455 bB
ϕFSII	P_C	0,713 aA	0,705 aA	0,684 aA	0,608 aA
	P_E	0,452 bA	0,345 bB	0,405 bA	0,251 bB
qP	P_C	0,921 aA	0,885 aA	0,877 aA	0,808 aA
	P_E	0,730 bA	0,674 bA	0,653 bA	0,554 bB
qNP	P_C	0,336 bB	0,459 bA	0,402 bA	0,445 bA
	P_E	0,758 aA	0,824 aA	0,698 aB	0,852 aA
NPQ	P_C	0,444 bA	0,671 bA	0,545 bA	0,626 bA
	P_E	2,067 aA	2,444 aA	1,437 aB	2,861 aA

	Efeito de Cultivares							
	$P_C H_C$		$P_C H_E$		$P_E H_C$		$P_E H_E$	
	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC	UFV-18	Doko RC
F_v/F_m								
F_v'/F_m'								
ϕFSII			*				*	
qP			*		*		*	
qNP								
NPQ					*			

Nas colunas, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si a $p \leq 0,05$. Nas linhas, médias seguidas de letras maiúsculas iguais, dentro da mesma cultivar, não diferem entre si a $p \leq 0,05$, pelo teste de Tukey.

* média significativamente maior pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$

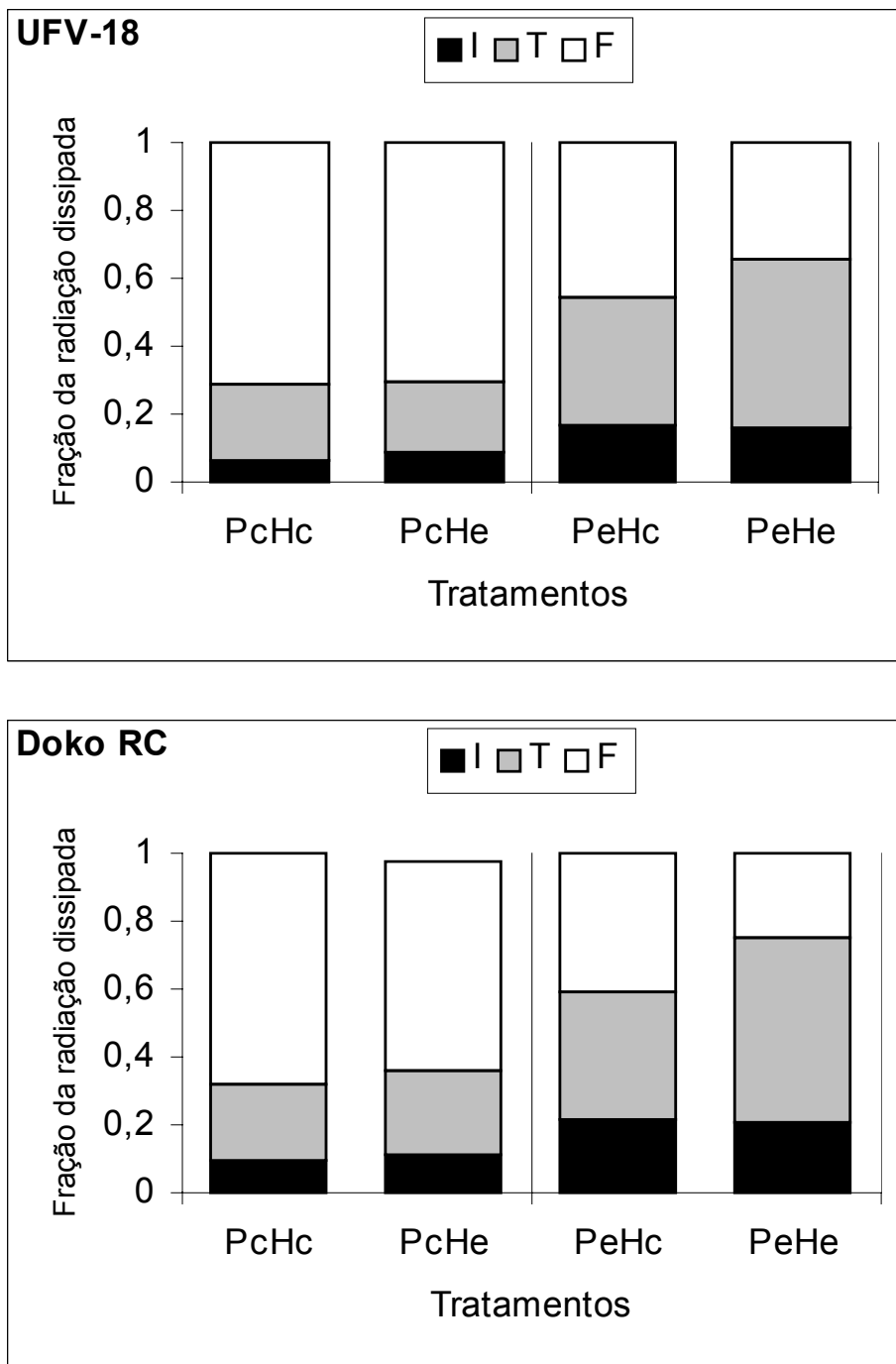


Figura 12 - Participação relativa da dissipação fotoquímica (F), térmica (T) e resultante do aumento em Q_A reduzida (I) na dissipação total da energia absorvida por plantas de soja cultivadas em dois níveis de fósforo (P_C - 250 mg dm^{-3} , P_E - 25 mg dm^{-3}), submetidas a *deficit* hídrico (H_E) ou não (H_C) e posterior recuperação da hidratação normal

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A influência das deficiências hídrica e de fósforo na fotoquímica da fotossíntese foi observada em plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Para tal, plantas de soja foram cultivadas em vasos contendo solo e areia, na proporção de 2:1 (v:v), adubados com 25 mg (deficientes) ou 250 mg (não deficientes) de P dm⁻³, na forma de Ca(H₂PO₄)₂.2H₂O. Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento R3, o *deficit* hídrico foi implementado. Quando as folhas apresentaram potencial hídrico na antemanhã entre - 0,5 e -1,0 MPa, verificou-se redução da taxa fotossintética líquida sob deficiências de água e de fósforo. A queda da taxa fotossintética líquida foi acompanhada por redução na eficiência quântica fotoquímica, medida pelas razões F_v/F_m , F_v'/F_m' e ϕ FSII nas plantas submetidas a deficiência de fósforo e de fósforo e água. Também, a dissipação não-fotoquímica da energia radiante foi aumentada apenas nos tratamentos citados. Grande parte dessa dissipação não-fotoquímica foi na forma de calor, comprovado pelo aumento em $(1 - F_v'/F_m')$, com a maior contribuição para essa dissipação calorífica vindo, possivelmente, do aumento na desepoxidação das xantofilas (volaxantina para anteraxantina e zeaxantina), indicado pelo aumento na diferença entre F_v/F_m e F_v'/F_m' . A fração de energia dissipada por processos

outros que estão relacionados com o estágio de redução de Q_A ($F_v'/F_m' - \phi$ FSII) aumentou com o *deficit* de água no cultivar Doko RC, e com o *deficit* de fósforo nas duas cultivares. Com a retomada da irrigação, a relação F_v'/F_m' foi menor nas plantas deficientes em fósforo e em fósforo e água, sugerindo que nessas plantas a inibição da eficiência fotoquímica foi de natureza crônica. A única mudança promovida pela reirrigação nos mecanismos dissipativos não-fotoquímicos da energia foi a volta para níveis semelhantes aos das plantas-controle dos valores de $F_v'/F_m' - \phi$ FSII das plantas que foram submetidas a deficiência hídrica e posterior recuperação. O *deficit* hídrico, isoladamente, não promoveu perturbação na fotoquímica da fotossíntese. Os dados sugerem que o *deficit* de fósforo provocou danos na estrutura dos fotossistemas e aumento na dissipação não-fotoquímica, quando aplicado de forma isolada e, principalmente, em conjunto com o *deficit* hídrico.

RESUMO E CONCLUSÕES

Plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foram cultivadas em casa de vegetação, utilizando-se como substrato solo e areia, na proporção de 2:1 (v:v). Os experimentos foram montados em um fatorial 2 x 2 x 2. O primeiro nível refere-se às cultivares utilizadas, o segundo às quantidades de P no substrato (25 e 250 mg P dm⁻³ de substrato) e o terceiro nível indica o estado hídrico da planta (plantas mantidas permanentemente irrigadas e plantas submetidas a *deficit* hídrico quando as mesmas atingiram o estágio de desenvolvimento R3). Dois grupos de plantas foram separados. O primeiro grupo foi utilizado para a avaliação do efeito do *deficit* hídrico e o segundo, para a análise dos efeitos do ressuprimento de água para as plantas. Verificou-se redução da taxa fotossintética líquida sob deficiências de água e de fósforo. O *deficit* hídrico não alterou a eficiência quântica do FSII, medida pelas razões F_v/F_m , F_v'/F_m' e ϕ FSII, e nem a dissipação não-fotoquímica (qNP), exceto quando em interação com a deficiência de fósforo. Em função do *deficit* hídrico, ocorreram as seguintes mudanças: a condutância estomática ao vapor d'água e a taxa transpiratória sofreram diminuição, a razão C_i/C_a aumentou e os teores de clorofilas não foram

alterados. O teor de amido foliar foi reduzido, resultado, provavelmente, de uma maior atividade de degradação, uma vez que houve acúmulo de açúcares solúveis e a atividade da *pirofosforilase do ADPG* não foi diminuída. Os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais foram aumentados em função da deficiência hídrica. A relação amido/açúcares não-redutores diminuiu e a massa seca das folhas e da parte aérea das plantas só sofreu redução nas plantas de Doko RC cultivadas no nível mais alto de fósforo. A queda da taxa fotossintética líquida foi acompanhada por redução na eficiência quântica fotoquímica, medida pelas razões F_v/F_m , F_v'/F_m' e ϕ FSII nas plantas submetidas a deficiência de fósforo e de fósforo e água. Também a dissipação não-fotoquímica da energia radiante foi aumentada nos tratamentos citados. Grande parte dessa dissipação não-fotoquímica foi na forma de calor, comprovado pelo aumento em $(1 - F_v'/F_m')$, com a maior contribuição para essa dissipação calorífica vindo do aumento na desepoxidação das xantofilas (volaxantina para anteraxantina e zeaxantina), observado pelo aumento na diferença entre F_v/F_m e F_v'/F_m' . Porém, a fração de energia dissipada por processos outros que estão correlacionados com o estágio de redução de Q_A ($F_v'/F_m' - \phi$ FSII) também aumentou com o *deficit* de fósforo nas duas cultivares. A razão C_i/C_a também aumentou sob deficiência de fósforo. Enquanto o teor de Pi foliar foi drasticamente reduzido nas plantas deficientes em fósforo, os teores de clorofilas sofreram redução apenas no cultivar Doko RC. Sob *deficit* de fósforo, os teores de amido foliares e a atividade da *pirofosforilase do ADPG* foram aumentados e, de maneira geral, os teores de açúcares não-redutores, redutores e solúveis totais não foram alterados. A relação amido/açúcares não-redutores aumentou com o *deficit* de fósforo, exceto nas plantas de UFV-18 que também sofreram deficiência de água. Ocorreram acentuadas reduções da massa seca das folhas e da parte aérea das plantas que foram submetidas a *deficit* de fósforo. Com a retomada da irrigação, a relação F_v/F_m foi menor nas plantas deficientes em fósforo e em fósforo e água. A única mudança promovida pela reirrigação nos mecanismos dissipativos da energia não-foto químicos, foi a volta para níveis semelhantes aos das plantas-

controle dos valores de F_v'/F_m' - ϕ FSII das plantas que foram submetidas a *deficit* hídrico e posterior recuperação. A deficiência hídrica, isoladamente, não promoveu perturbação na fotoquímica da fotossíntese. Após a reirrigação, houve recuperação da taxa fotossintética líquida, da condutância estomática, da taxa transpiratória e da relação C_i/C_a , com valores iguais aos das plantas-controle. Os teores de todos os açúcares analisados foram semelhantes após a reirrigação, com exceção das plantas que sofreram deficiências combinadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADIA, J.; RAO, I.M.; TERRY, N. Changes in leaf phosphate status have only small effects on the photochemical apparatus of sugarbeet leaves. **Plant Science**, 50:49-55, 1987.
- AL-KARAKI, G.N.; CLARK, R.B.; SULLIVAN, C.Y. Effects of phosphorus and water stress levels on growth and phosphorus uptake of bean and sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, 18(3): 563-578, 1995.
- ALMEIDA, J.P.F.; HARTWIG, U.A.; FREHNER, M.; NOSBERGER, J.; LUSCHER, A. Evidence that P deficiency induces N feedback regulation of symbiotic N₂ fixation in white clover (*Trifolium repens* L.). **Journal of Experimental Botany**, 51:1289-1297, 2000.
- ARNON, D.I. Cooper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, 24:1-15, 1949.
- BARLOW, E.W.R.; BOERSMA, L.; YOUNG, J.L. Root temperature and soil water potential on growth and soluble carbohydrate concentration of corn seedlings. **Crop Science**, 16:59-62, 1976.
- BARNES, J.D.; BALAGUER, L.; MANRIQUE, E.; ELVIRA, S.; DAVISON, A.W. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls *a* and *b* in lichens and higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, 32(2):85-100, 1992.

- BASU, P.S.; SHARMA, A.; GARG, I.D.; SUKUMARAN, N.P. Tuber sink modifies photosynthetic response in potato under water stress. **Environmental and Experimental Botany**, 42:25-39, 1999.
- BIEHLER, K.; MIGGE, A. FOCK, H.P. The role of malate dehydrogenase in dissipating excess energy under water stress in two wheat species. **Photosynthetica**, 32(3):431-438, 1996.
- BINDER, W.D.; FIELDER, P.; MOHAMMED, G.H.; L'HIRONDELLE, S.J. (1997) Applications of chlorophyll fluorescence for stock quality assessment with different types of fluorometers. **New Forests**, 13:63-89.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72:248-254, 1976.
- 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**, 13:231-237, 1986.
- BROOKS, A.; WOO, K.C.; WONG, S.C. Effects of phosphorus nutrition on the response of photosynthesis to CO₂ and O₂, activation of ribulose bisphosphate carboxylase and amounts of ribulose bisphosphate and 3-phosphoglycerate in spinach leaves. **Photosynthesis Research**, 15:133-141, 1988.
- CASTRILLO, M. Sucrose metabolism in bean plants under water deficit. **Journal of Experimental Botany**, 43(257): 1557-1561, 1992.
- CASTRILLO, M.; TRUJILLO, I. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. **Photosynthetica**, 30:175-181, 1994.
- CHAPIN, F.S.III.; WARDLAW, I.F. Effect of phosphorus deficiency on source-sink interactions between the flag leaf and developing grain in barley. **Journal of Experimental Botany**, 39:165-177, 1988.
- CHAVES, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, 42:1-16, 1991.
- CHEN, X.M.; BEGONIA, G.B.; ALM, D.M.; HESKETH, J.D. Response of soybean leaf photosynthesis to CO₂ and drought. **Photosynthetica**, 29(3): 447-454, 1993.
- CIERESZKO, I.; BARBACHOWSKA, A. Sucrose metabolism in leaves and roots of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during phosphate deficiency. **Journal of Plant Physiology**, 156(5-6):640-644, 2000.

- COCHRANE, T.T.; PORRAS, J.A.; HENAO, M.R. The relative tendency of the cerrados to be affected by veranicos: a provisional assessment. In: VI SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO. SAVANAS: ALIMENTO E ENERGIA. Planaltina, DF, EMBRAPA - CPAC, 1988. p.229-239.
- CORNIC, G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not by affecting ATP synthesis. **Trends in Plant Science**, 5(5):187-188, 2000.
- CORNIC, G.; LE GOUALLEC, J.-L.; BRIANTAIS, J.-M.; HODGES, M. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Elatostema repens* [Lour.] Hall f.). **Planta**, 177:84-90, 1989.
- CRAFTS-BRANDBER, S.J. Significance of leaf phosphorus remobilization in yield production in soybean. **Crop Science**, 32:420-424, 1992.
- DA MATTA, F.M.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. **Photosynthetica**, 34(2):257-264, 1997.
- DAIE, J. Metabolic adjustments, assimilate partitioning, and alterations in source-sink relations in drought-stressed plants. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. **Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationship**. New York, Marcel Dekker, Inc., p.407-420, 1996.
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS III, W.W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. **Planta**, 198:460-470, 1996.
- DENNIS, D.T.; BLAKELEY, S.D. Carbohydrate metabolism. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville, American Society of Plant Physiologists, p.630-675, 2000.
- DIETZ, K.-J.; FOYER, C. The relationship between phosphate status and photosynthesis in leaves. **Planta**, 167:376-381, 1986.
- DOSS, B.D.; PEARSON, R.W.; ROGERS, H.T. Effect of soil water stress at various growth stages on soybean yield. **Agronomy Journal**, 66:297-299, 1974.
- DUA, A.; TALWAR, G.; SINGAL, H.R.; SINGH, R. CO₂ exchange, primary photochemical reactions and enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in *Brassica* pods during water stress and recovery. **Photosynthetica**, 30(2): 261-268, 1994.

- ECK, H.V.; MATHERS, A.C.; MUSICK, J.T. Plant water stress at various growth stages and growth and yield of soybeans. **Field Crops Research**, 17:1-16, 1987.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stages of soybean development. Iowa State University, **Coop. Ext. Serv. Agric. Home Econ. Exp. Stn. Spec. Rep.**, 80:1-12, 1977.
- FERRIS, R.; WHEELER, T.R.; HADLEY, P.; ELLIS, R.H. Recovery of photosynthesis after environmental stress in soybean grown under elevated CO₂. **Crop Science**, 38:948-955, 1998.
- FOYER, C.; SPENCER, C. The relations between phosphate status and photosynthesis in leaves. Effects of intracellular orthophosphate distribution, photosynthesis and assimilate partitioning. **Planta**, 167: 369-375, 1986.
- FREDEEN, A.L.; RAO, I.M.; TERRY, N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. **Plant Physiology**, 89:225-230, 1989.
- FURBANK, R.T.; FOYER, C.H.; WALKER, D.A. Regulation of photosynthesis in isolated spinach chloroplasts during orthophosphate limitation. **Biochimica et Biophysica Acta**, 894:552-61, 1987.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.-M.; VIEIRA DA SILVA, J.B. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. **Plant Physiology**, 83:360-364, 1987.
- GIARDI, M.T.; CONA, A.; GEIKEN, B.; KUCERA, T.; MASOJIDEK, J.; MATTOO, A.K. Long-term drought stress induces structural and functional reorganization of photosystem II. **Planta**, 199:118-125, 1996.
- GIARDI, M.T.; MASOJIDEK, J.; GODDE, D. Effects of abiotic stresses on turnover of the D₁ reaction centre II protein. **Physiologia Plantarum**, 101:635-642, 1997.
- GIMENEZ, C.; MITCHELL, V.J.; LAWLOR, D.W. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. **Plant Physiology**, 98:516-524, 1992.
- GUIDI, L.; PALLINI, M.; SOLDATINI, G.F. Influence of phosphorus deficiency on photosynthesis in sunflower and soybean plants. **Agrochimica**, 38(3):211-223, 1994.

- GUNASEKERA, D.; BERKOWITZ, G.A. Use of transgenic plants with ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. **Plant Physiology**, 103:629-635, 1993.
- GUTIERREZ-BOEM, F.H.; THOMAS, G.W. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. **Plant and Soil**, 207(1):87-96, 1998.
- HANSON, A.D; HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology**, 33:13-203, 1982.
- HAO, L.-M.; WANG, H.-L.; WEN, J.-Q. LIANG, H.G. Effect of water stress on light-harvesting complexII (LHCII) and expression of a gene encoding LHCII in *Zea mays*. **Journal of Plant Physiology**, 149:30-34, 1996.
- HARN, C.; DAIE, J. Regulation of the cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase by post-translational modification and protein level in drought-stressed leaves of sugarbeet. **Plant and Cell Physiology**, 33(6):763-770, 1992.
- HAVAUX, M. Stress tolerance of photosystem II in vivo: antagonistic effects of water, heat, and photoinhibition stress. **Plant Physiology**, 100:424-432, 1992.
- HE, J.X.; WANG, J.; LIANG, H.G. Effect of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. **Physiologia Plantarum**, 93:771-777, 1995.
- HELDT, H-W. **Plant biochemistry and molecular biology**. Oxford: Oxford University Press. 1997. p.219-246.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **Univ. Calif. Agric. Expt. Sta. Circ.**, 347:1-32, 1938.
- HODGE, J.E.; HOFREITER, B.R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (eds.). **Methods in carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v.1, p.380-394.
- HUBER, S.C.; ROGERS, H.H.; MOWRI, F.L. Effects of water stress on photosynthesis and carbon partitioning in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) plants grown in the field at different CO₂ levels. **Plant Physiology**, 76:244-249, 1984.
- ITURBE-ORMAETXE, I.; ESCUREDO, P.R.; ARRESE-IGOR, C.; BECANA, M. Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. **Plant Physiology**, 116:173-181, 1998.

- JACOB, J. Phosphate deficiency increases the rate constant of thermal dissipation of excitation energy by photosystem II in intact leaves of sunflower and maize. **Australian Journal of Plant Physiology**, 22:417-424, 1995.
- JACOB, J.; LAWLOR, D.W. *In vivo* photosynthetic electron transport does not limit photosynthetic capacity in phosphate deficient sunflower and maize leaves. **Plant, Cell and Environment**, 16:785-795, 1993.
- KAISER, W.M. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. **Physiologia Plantarum**, 71:142-149, 1987.
- KANECHI, M.; UCHIDA, N.; YASUDA, T.; YAMAGUCHI, T. Non-stomatal inhibition associated with inactivation of Rubisco in dehydrated coffee leaves under unshaded and shaded conditions. **Plant and Cell Physiology**, 37:455-460, 1996.
- KERR, P.S.; HUBER, S.C.; ISRAEL, D.W. Effect of N-source on soybean leaf sucrose phosphate synthase, starch formation, and whole plant growth. **Plant Physiology**, 75:483-488, 1984.
- KICHEVA, M.I.; SONEV, T.D.; POPOVA, L.P. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis in two wheat cultivars subjected to water stress. **Photosynthetica**, 30(1): 107-116, 1994.
- LAUER, M.J.; BOYER, J.S. Internal CO₂ measured directly in leaves: abscisic acid and low leaf water potential cause opposing effects. **Plant Physiology**, 98:1310-1316, 1992.
- LAURIANO, J.A.; CAMPOS, P.S.; RAMALHO, J.C.; LIDON, F.C.; GUEDES, M.E.; CÉU MATOS, M. Partial decline of *Arachis hypogea* L. photosynthesis triggered by drought stress. **Photosynthetica**, 33(1):81-90, 1997.
- LIMA, J.D.; MOSQUIM, P.R.; DA MATTA, F.M. Leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. **Photosynthetica**, 37:113-121, 1999.
- LINDEMAN, W. Observations on the behaviour of phosphate compounds in *Chlorella* at the transition from dark to light. **Proc. 2nd U. N. International Conference on the peaceful uses of atomic energy.**, 24:8-15, 1958.
- MAURY, P.; MOJAYAD, F.; BERGER, M.; PLANCHON, C. Photochemical response to drought acclimation in two sunflower genotypes. **Physiologia Plantarum**, 98:57-66, 1996.

- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, 153:375-380, 1944
- OQUIST, G.; CHOW, W.S.; ANDERSON, J.M. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. **Planta**, 186:450-460, 1992.
- PASSARINHO, J.A.; RODRIGUES, M.L.; OSORIO, M.L.; RICARDO, C.P.P.; CHAVES, M.M. Physiological responses of *Lupinus mutabilis* to phosphorus nutrition and season of growth. **Journal of Plant Nutrition**, 23:487-505, 2000.
- PELLESCHI, S.; ROCHER, J.-P.; PRIOUL, J.-L. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. **Plant, Cell and Environment**, 20:493-503, 1997.
- PEREIRA, P.R.G. **Eficiência da utilização de frações de fósforo na soja e regulação da colonização micorrízica**. UFV, Viçosa, MG, 1992. 174p. Tese de Doutorado.
- PLESNICAR, M.; KASTORI, R.; PETROVIC, N.; PANKOVIC, D. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves as affected by phosphorus nutrition. **Journal of Experimental Botany**, 45(276):919-924, 1994.
- QIU, J.; ISRAEL, D.W. Carbohydrate accumulation and utilization in soybean plants in response to altered phosphorus nutrition. **Physiologia Plantarum**, 90:722-728, 1994.
- QIU, J.; ISRAEL, D.W. Diurnal starch accumulation and utilization in phosphorus-deficient soybean plants. **Plant Physiology**, 98:316-323, 1992.
- RADIN, J.W.; EIDENBOCK, M.P. Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. **Plant Physiology**, 75:372-377, 1984.
- 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**, 90:814-819, 1989.
- RODRIGUEZ, D.; ANDRADE, F.H.; GOUDRIAAN, J. Does assimilate supply limit leaf expansion in wheat grown in the field under low phosphorus availability? **Field Crops Research**, 67:227-238, 2000.

- RODRIGUEZ, D.; GOUDRIAAN, J.; OYARZABAL, M.; POMAR, M.C. Phosphorus nutrition and water stress tolerance in wheat plants. **Journal of Plant Nutrition**, 19(1): 29-39, 1996.
- RUBAN, A.V.; HORTON, P. Regulation of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, 22:221-230, 1995.
- RUFTY, T.W.; HUBER, S.C. Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmatic fructose-1,6-bisphosphatase in response to source-sink alterations. **Plant Physiology**, 72:474-480, 1983.
- SA, T.; ISRAEL, D.W. Phosphorus-deficiency effects on response of symbiotic N₂ fixation and carbohydrate status in soybean to atmospheric CO₂ enrichment. **Journal of Plant Nutrition**, 21(10):2207-2218, 1998.
- SACCARDY, K.; CORNIC, G.; BRULFERT, J.; REYSS, A. Effect of drought stress on net CO₂ uptake by leaf *Zea mays* L. cv. Adonis. **Planta**, 199: 589-595, 1996.
- SACCARDY, K.; PINEAU, B.; ROCHE, O.; CORNIC, G. Photochemical efficiency of photosystem II and xanthophyll cycle components in *Zea mays* leaves exposed to water stress and high light. **Photosynthesis Research**, 56:57-66, 1998.
- SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, J.; MARTÍNEZ-CARRASCO, R.; PÉREZ, P. Photosynthetic electron transport and carbon-reduction-cycle enzyme activities under long-term drought stress in *Casuarina equisetifolia* Forst. & Forst.. **Photosynthesis Research**, 52:255-262, 1997.
- SAWADA, S.; ENOMOTO, S.; TOZU, T.; KASAI, M. Regulation of the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in response to changes in the photosynthetic source-sink balance in intact soybean plants. **Plant and Cell Physiology**, 36(4):551-556, 1995.
- SCHEUERMANN, R.; BIEHLER, K.; STUHLFAUTH, T.; FOCK, H.P. Simultaneous gas exchange and fluorescence measurements indicate differences in the response of sunflower, bean and maize to water stress. **Photosynthesis Research**, 27:189-197, 1991.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, 148:339-345, 1965.

- SHARKEY, T.D.; SEEMANN, J.R. Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. **Plant Physiology**, 89:1060-1065, 1989.
- SOMOGY, M. Notes of sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, 95:19-23, 1952.
- STITT, M.; QUICK, W.P. Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. **Physiologia Plantarum**, 77:633-641, 1989.
- SUWIGNYO, R.A.; NOSE, A.; KAWAMITSU, Y.; TSUCHIYA, M.; WASANO, K. Effects of manipulations of source and sink on the carbon exchange rate and some enzymes of sucrose metabolism in leaves of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Plant and Cell Physiology**, 36(8):1439-1446, 1995.
- TAIZ, L.; ZEIGER E. **Plant Physiology**. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers. 1998. p.197.
- TERJUNG, F.; BERG, D.; MAIER, K.; OTTEKEN, D. Investigations on the electron transfer processes in photosystem II: new insights by chlorophyll fluorescence decay measurements with additional saturating light pulses. **Photosynthesis Research**, 53:29-34, 1997.
- TEZARA, W.; MITCHELL, V.J.; DRISCOLL, S.D.; LAWLOR, D.W. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. **Nature**, 401:914-917, 1999.
- TURNER, N.C. Adaptation to water deficits: A changing perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, 13:175-190, 1986.
- USUDA, H.; SHIMOGAWARA, K. Phosphate deficiency in maize. II. Enzyme activities. **Plant and Cell Physiology**, 32:1313-1317, 1991.
- VERDADE, F.C. Agricultura e silvicultura no cerrado. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 3^o, São Paulo, 1971. Anais... São Paulo, USP, 1971. 65-76.
- VETTORI, I. **Métodos de análises do solo**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, EPF, 1969, 24p. (Boletim Técnico).
- VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, 153:376-387, 1981.

- WISE, R.R., ORTIZ-LOPEZ, A., ORT, D.R. Spatial distribution of photosynthesis during drought in field-grown and acclimated and non-acclimated growth chamber-grown cotton. **Plant Physiology**, 100:26-32, 1992.
- YAMANE, Y.; KASHINO, Y.; KOIKE, H.; SATOH, K. Effects of high temperature on the photosynthetic system in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. **Photosynthesis Research**, 57:51-59, 1998.
- YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Influence of drought, high temperature, and carbamide cytokinin 4-PU-30 on photosynthetic activity of bean plants. 1. Changes in chlorophyll fluorescence quenching. **Photosynthetica**, 37:447-457, 1999.