

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Ricinus communis* À REDUÇÃO NA
DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO

Tanise Luisa Sausen
Bióloga, UNIJUÍ

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de concentração Agrometeorologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2007

"Tem gente que tem cheiro das estrelas que Deus acendeu no céu, tem cheiro de cafuné sem pressa, do brinquedo que a gente não largava...", aos meus queridos pais,

Dedico

“Descobri como é bom chegar quando se tem paciência, e para chegar onde quer que seja, aprendi que não é preciso dominar a força, mas a razão. É preciso antes de mais nada, querer.”

Amyr Klink

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Luís Mauro Gonçalves Rosa, pela acolhida, pela confiança, amizade, ajuda, paciência e ensinamentos;

Ao professor Ubiratã Soares Jacobi pela minha iniciação na pesquisa científica;

Aos meus pais e amores, Joarez e Liria, pelo incentivo em todas as etapas da minha vida, pela compreensão da minha ausência em muitos momentos e pelo exemplo de vida;

Ao meu querido irmão Tiago Sausen, pela ajuda imprescindível nas mais diversas etapas deste trabalho, pelas sugestões e críticas, pela sua inesgotável paciência e pela sua eterna amizade;

A Embrapa Algodão (Campina Grande/PB) pela doação das sementes de mamona utilizadas nos experimentos;

A professora Lúcia Dillenburg, do Instituto de Biociências (UFRGS/RS), pelo empréstimo do porômetro e da câmara de pressão;

Aos professores Renato Borges de Medeiros e Miguel Dall’Agnol, do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia (UFRGS/RS), pelo empréstimo da casa de vegetação para realização dos experimentos;

Ao professor Fábio Scarano, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ/RJ), pelo empréstimo do fluorômetro;

Ao professor Rafael Oliveira, da Universidade de Campinas (Unicamp/SP) e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA, USP, Piracicaba/SP), pelo auxílio nos testes para determinação de isótopos de carbono;

As colegas, Ana Paula, Bianca, Luciana, Carla, Marisa e Morgana, do laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Faculdade de Agronomia e do Instituto de Biociências, pela amizade e ajuda;

As colegas de mestrado, Franceli Kulcheski, Loana Cardoso e Raquel Barro pela amizade, pelos momentos de estudo e descontração;

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida;

A Deus, pela intensidade de sua presença em minha vida.

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Ricinus communis* À REDUÇÃO NA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO¹

Autora: Tanise Luisa Sausen

Orientador: Luis Mauro Gonçalves Rosa

RESUMO

O cenário de mudanças climáticas globais sugere um aumento da aridez em muitas áreas do mundo, com propensão ao aumento de chuvas no inverno e períodos de seca cada vez mais freqüentes no verão. A deficiência hídrica afeta a performance vegetal através de efeitos sobre o crescimento e a fotossíntese. A mamona (*Ricinus communis*) é considerada uma cultura tolerante à seca, de elevada importância econômica devido à utilização do óleo extraído de suas sementes na produção de biodiesel. Os efeitos do estresse hídrico sobre o processo fotossintético de plantas de mamona foram investigados em duas fases experimentais distintas. Na etapa 1 de um estudo realizado em casa de vegetação, alterações nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* foram analisados. Sob condições de déficit hídrico, a absorção de energia pela antena do fotossistema II foi reduzida e um aumento nos mecanismos de dissipação de energia parece regular a atividade do fotossistema. Na etapa 2 deste estudo, as possíveis limitações na assimilação de carbono e a eficiência no uso da água foram investigados. Em condições de estresse hídrico observou-se a redução da atividade de troca gasosa e o aumento da eficiência no uso da água. A análise de curvas de resposta à concentração interna de CO₂ (A-C_i) e dos parâmetros bioquímicos demonstrou que, sob suave seca, a limitação estomática é a principal responsável pela redução da fotossíntese. Entretanto, sob condições de severa seca, além da limitação estomática, a fotossíntese é afetada também por limitações bioquímicas. Nas duas fases experimentais, observou-se a redução do crescimento e da área foliar total nas plantas de mamona em estresse hídrico. A redução da disponibilidade de água no solo parece regular a atividade do aparato fotossintético de plantas de mamona, e a redução no processo de fotossíntese é causada por limitações estomáticas e metabólicas que variam de acordo com a intensidade do estresse hídrico.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (87p.) Março, 2007.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF *Ricinus communis* TO REDUCTIONS IN SOIL WATER AVAILABILITY¹

Author: Tanise Luisa Sausen
Advisor: Luis Mauro Gonçalves Rosa

ABSTRACT

The worldwide climate change scenario suggests an increase in aridity in many areas around the world. This may be accompanied by increases in rainfall during winter and ever more frequent drought periods during the summer. Reductions in water availability affect the plant performance through the effects upon growth and photosynthesis. Castor bean is thought to be a drought tolerant crop which has grown in economic importance due to the production of biodiesel. In this study, the water stress effects on the photosynthetic processes of castor bean plants were investigated in two distinct experimental phases. At phase 1, changes in chlorophyll fluorescence parameters and stomatal conductance were analyzed in greenhouse grown plants. Under water stress conditions, the PSII antennae energy absorption was reduced and an increase of the energy dissipation mechanisms seems to regulate the activity of photosystem II. At the phase 2, the limitations to carbon assimilation and the water use efficiency were investigated upon water stress conditions. A decrease in gas exchange and an increase on the water use efficiency were observed. The analysis of Assimilation vs internal CO₂ concentration response curves and the biochemical parameters of photosynthesis shows that, under mild drought stress, the stomatal limitation was the main factor reducing photosynthetic performance. However, under severe drought conditions, stomata was not the only limiting factor, because photosynthesis was also affected by biochemical limitations. In both phases growth and leaf area decreased under water stress. The reduction on the soil water availability seems to regulate the activity of the photosynthetic apparatus, and the decrease in photosynthesis is caused by stomatal and metabolic limitations, which vary in magnitude according to the water stress intensity.

¹ Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (87p.) March, 2007.

SUMÁRIO

	Página
1. CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2. CAPÍTULO II – Alterações na condutância estomática e fluorescência da clorofila <i>a</i> de plantas de <i>Ricinus communis</i> submetidas ao déficit hídrico do solo.....	11
2.1. RESUMO.....	11
2.2. INTRODUÇÃO.....	12
2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
2.3.1. Condições de cultivo e tratamentos.....	14
2.3.2. Conteúdo gravimétrico de água no solo.....	15
2.3.3 “Status” hídrico das plantas.....	16
2.3.4. Condutância estomática e transpiração.....	16
2.3.5. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	16
2.3.6. Conteúdo de clorofila.....	17
2.3.7. Medidas de crescimento.....	17
2.3.8. Delineamento completamente casualizado.....	18
2.4. RESULTADOS.....	18
2.5. DISCUSSÃO.....	28

3. CAPÍTULO III – Padrão diário de trocas gasosas e eficiência no uso da água em <i>Ricinus communis</i> (mamona) sob déficit hídrico do solo.....	33
3.1. RESUMO.....	33
3.2. INTRODUÇÃO.....	34
3.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.3.1. Condições de cultivo e tratamentos.....	36
3.3.2. Conteúdo gravimétrico de água no solo.....	37
3.3.3. “Status” hídrico das plantas.....	37
3.3.4. Padrão diário de trocas gasosas.....	38
3.3.5. Curva de resposta A - C_i	38
3.3.6. Concentração de isótopos de carbono.....	39
3.3.7. Medidas de crescimento, biomassa, área foliar e conteúdo de clorofila.....	40
3.3.8. Delineamento completamente casualizado.....	40
3.4. RESULTADOS.....	41
3.5. DISCUSSÃO.....	52
4. CAPÍTULO IV – CONCLUSÕES GERAIS.....	59
5. CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
2.1. Medidas de biomassa da parte aérea, biomassa da raiz, razão biomassa de raiz/biomassa da parte aérea, área foliar total (cm ²) e espessura do caule (mm) em plantas hidratadas e estressadas de mamona, ao final do período experimental. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média (n=10 para controle e 20 para tratamento). Porto Alegre, RS, 2005/06.....	19
3.1. Condições ambientais dentro da casa de vegetação durante o período experimental. Variação de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) nos dias de medição (dias após a suspensão da irrigação) do padrão diário de trocas gasosas. Valores são médias de temperatura e umidade relativa do ar, registradas nos intervalos de medição ao longo do dia. Porto Alegre, RS, 2006.....	42
3.2. Medidas de crescimento, biomassa e teor de pigmentos fotossintetizantes. Razão da biomassa de raiz/biomassa da parte aérea, área foliar total (cm ²), total de clorofila (mg/m ²) e razão clorofila a/b em plantas de mamona hidratadas e em estresse hídrico. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão (n=20 para controle e 27 para tratamento). Porto Alegre, RS, 2006.....	51

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
2.1. Variação da temperatura do ar no período do meio dia e déficit de pressão vapor no período entre as 9 e 11 horas da manhã dentro da casa de vegetação durante o período experimental. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	19
2.2. Conteúdo gravimétrico de água no solo (A) e potencial hídrico das folhas (B) em diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	21
2.3. Variação da condutância estomática (A) e taxa de transpiração (B) de plantas de mamona em função da redução na disponibilidade de água no solo. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	22
2.4. Respostas dos parâmetros de fluorescência de plantas de mamona após a imposição do déficit hídrico. F_v/F_m , máxima eficiência quântica do PSII (A); F_v'/F_m' , eficiência da antena do PSII (B); F_0 , fluorescência mínima (C); ETR, taxa de transporte de elétrons (D); qP, <i>quenching</i> fotoquímico (E) e NPQ, <i>quenching</i> não-fotoquímico (F). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	24
2.5. Variação na fração de energia absorvida na antena que é utilizada no processo fotoquímico (A) e energia que é dissipada por calor (B) em folhas de mamona após a imposição do déficit hídrico. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	25

	Página
2.6. Efeitos do déficit hídrico sobre a concentração de clorofila, dada pela razão clorofila a/clorofila b. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.....	26
2.7. Efeitos do déficit hídrico sobre a altura da parte aérea de plantas de mamona. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média para dez plantas (hidratadas) e vinte plantas (estressadas). Porto Alegre, RS, 2005/06.....	26
3.1. Conteúdo gravimétrico de água no solo (A) e potencial hídrico das folhas (B) em diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.....	43
3.2. Padrão diário de assimilação de carbono (A) e padrão diário de transpiração (B) em plantas de mamona em diferentes <i>status</i> hídrico. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.....	44
3.3. Efeitos do estresse hídrico sobre a concentração foliar de isótopos de carbono ($\delta^{13}C$) em plantas de mamona. Barras indicam médias de dez plantas por sistema de irrigação. Porto Alegre, RS, 2006.....	46
3.4. Padrão diário de eficiência no uso da água em plantas de mamona em diferentes <i>status</i> hídrico. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.....	46
3.5. Curva de resposta da fotossíntese (A) a concentração interna de CO_2 (C_i). Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Porto Alegre, RS, 2006.....	48

	Página
3.6. Efeitos do estresse hídrico sobre os parâmetros bioquímicos: (A) Velocidade máxima de carboxilação; (B) Taxa de transporte de elétrons; (C) Limitação estomática e (D) Fotossíntese em condições de CO ₂ e luz saturante. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ a $-2,1$ MPa). Barras expressam médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.....	49
3.7. Efeitos da suspensão da irrigação sobre a altura da parte aérea de plantas de mamona. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média para 20 plantas (hidratadas) e 27 plantas (estressadas). Porto Alegre, RS, 2006.....	50

RELAÇÃO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Ψ_w	Potencial hídrico da folha
θ_m	Conteúdo gravimétrico de água no solo
$\delta^{13}\text{C}$	Concentração de isótopos de carbono
ATP	Adenosina tri-fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
RuBP	Ribulose 1,5 bisfosfato
Rubisco	Ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase
PSII	Fotossistema II
ABA	Ácido abscísico
RWC	Conteúdo relativo de água na planta
PCR	Ciclo de redução do carbono
PVC	Policloreto de vinila
PAR	Radiação Fotossinteticamente Ativa
F_v/F_m	Eficiência intrínseca do fotossistema II

F_v/F_m'	Eficiência da antena do fotossistema II
F_0	Fluorescência mínima (basal)
F_0'	Fluorescência mínima no estado iluminado
ETR	Taxa de transporte de elétrons
qP	<i>quenching</i> fotoquímico
NPQ	<i>quenching</i> não-fotoquímico
P	Fração de energia absorvida utilizada no processo fotoquímico
D	Fração de energia dissipada termalmente
g_s	Condutância estomática
E	Taxa de transpiração
A	Taxa de Assimilação de Carbono
EUA	Eficiência no Uso da Água
C_i	Concentração interna de CO ₂
Ppm	Partes por milhão
J_{max}	Taxa máxima de transporte de elétrons
V_{cmax}	Velocidade máxima de carboxilação
A_{max}	Taxa máxima de assimilação de carbono sob condições de saturação de luz e CO ₂
L_s	Limitação estomática
Q_A	Quinona a
Q_B	Quinona b

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cenário de mudanças climáticas globais sugere um aumento da aridez em muitas áreas do mundo. Neste cenário, a deficiência hídrica em conjunto com altas temperaturas e altas irradiancias, é o mais importante limitador ambiental da sobrevivência e produtividade vegetal. Dessa forma, um melhor entendimento dos efeitos da seca sobre as plantas é vital para fornecer práticas de manejo e técnicas de melhoramento na agricultura e compreender os efeitos sobre a distribuição da vegetação.

Na natureza, as plantas podem estar sujeitas ao desenvolvimento lento e gradual da escassez de água (dentro de semanas a meses) ou a deficiências hídricas desenvolvidas em curto período de tempo (horas ou dias). A desidratação lenta ou rápida pode ter resultados totalmente diferentes em termos de resposta fisiológica ou adaptação (McDonald & Davies, 1996), e a importância do tempo em

que a planta manifesta a resposta pode mudar dramaticamente de acordo com o seu genótipo ou o ambiente (Chaves & Oliveira, 2004).

Classicamente, a resistência das plantas à seca têm sido dividida em estratégias de escape, evitamento e tolerância (Levitt, 1972; Turner, 1986). Todavia, estas estratégias não são mutuamente exclusivas e, na prática, as plantas podem combinar uma ampla gama de respostas (Ludlow, 1989). As plantas que escapam da seca exibem um alto grau de desenvolvimento de plasticidade, sendo capazes de completar seu ciclo de vida antes que o déficit hídrico ocorra.

O evitamento da desidratação está associado com uma variedade de características adaptativas que envolvem minimizar a perda e maximizar o ganho de água. A perda de água é minimizada pelo fechamento estomático; pela redução da absorção de luz através do enrolamento foliar (Ehleringer & Cooper, 1992), de uma densa camada de tricomas aumentando a refletância (Larcher, 2000), da redução nos ângulos foliares; ou pelo decréscimo da área foliar através do crescimento reduzido e queda de folhas velhas. O ganho de água é maximizado pelo ajuste no padrão de alocação, aumentando o investimento em raízes e diminuindo a proporção de matéria seca alocada para a parte aérea (Jackson *et al.*, 2000).

A tolerância ao estresse hídrico, por outro lado, pode envolver tanto processos que resultem na manutenção do turgor, envolvendo o ajuste osmótico (Morgan, 1984), como processos que mantenham a integridade celular sob condições de desidratação (Jones, 1991), com paredes celulares mais rígidas ou células menores (Wilson *et al.*, 1980). As plantas podem suportar as condições de seca evitando a desidratação dos tecidos, ao manter altos valores de potencial hídrico ou por tolerar potenciais hídricos baixos. Dormência parcial da planta para sobreviver à estação

seca é outra estratégia de tolerância, e a dormência ocorre pela repressão de genes que codificam proteínas relacionadas com a fotossíntese (Mittler *et al.*, 2001).

A resposta integrada da planta, incluindo a assimilação de carbono, a alocação de fotoassimilados para diferentes partes da planta e a habilidade reprodutiva, possibilita a sobrevivência e a manutenção em condições de estresse ambiental (Pereira & Chaves, 1993). Estas respostas podem ter influência negativa sobre a assimilação de carbono e o crescimento.

As diferenças entre as espécies no crescimento e sobrevivência podem ser causadas mais provavelmente por diferenças na capacidade para a aquisição de água e transporte do que por drásticas diferenças no metabolismo (Chaves *et al.*, 2002). Todavia, a assimilação de carbono sempre decresce, em condições de estresse hídrico, como consequência de limitações à difusão de CO₂ na folha, do desvio da alocação de carbono para órgãos não fotossintetizantes e moléculas de defesa, ou de mudanças na bioquímica foliar que resultam em redução na fotossíntese.

1.1. Influência do déficit hídrico sobre o crescimento

O crescimento celular é considerado o processo mais sensível à baixa disponibilidade de água no solo (Kramer & Boyer, 1995), com a divisão e expansão celular sendo diretamente inibidas pelo estresse hídrico (Zhu, 2001). Esta sensibilidade deve-se ao impacto do déficit hídrico sobre a taxa de expansão das células, devido à perda no turgor (Hale & Orcutt, 1987; Kozlowski & Pallardy, 1997). As plantas podem manter o turgor pela acumulação de solutos (ajuste osmótico), e possivelmente pelo ajuste da elasticidade das suas paredes celulares (Marshall & Dumbroff, 1999). O ajuste osmótico, assim como o fechamento dos estômatos,

permite às plantas escapar da desidratação e da perda do turgor pela manutenção do conteúdo de água nas células. Além disso, as plantas submetidas a um estresse hídrico podem escapar da redução no potencial hídrico e manter o turgor pela redução na elasticidade de suas paredes celulares (Eze *et al.*, 1986; Levitt, 1986; Fan *et al.*, 1994; Saito & Terashima, 2004).

Além dos efeitos sobre a expansão celular, os efeitos negativos do déficit hídrico sobre a fotossíntese e a absorção de íons contribuem para a redução nas taxas de crescimento. A redução do crescimento é considerada como uma característica adaptativa para a sobrevivência da planta, pois permite direcionar assimilados e energia, antes utilizados para o crescimento do caule, em moléculas protetoras para combater o estresse (Zhu, 2002) e/ou para manter o crescimento da raiz, para absorção de água (Chaves *et al.*, 2003).

Sem dúvida, a alocação de biomassa é um dos principais mecanismos pelos quais as plantas se ajustam às mudanças nos recursos ambientais para obter mais eficientemente os recursos limitantes (Chapin *et al.*, 1987). Medidas do crescimento diferencial de órgãos, ou seja, razões entre raízes e parte aérea, podem fornecer um indicador do desempenho de cada componente da planta em um determinado ambiente. Além disso, a habilidade para acumular (e mais tarde remobilizar) reservas do caule é uma importante característica para manter o crescimento reprodutivo sob déficit hídrico (Blum *et al.*, 1994).

De acordo com Jones (1991), a parte aérea é o componente da planta mais afetado pela baixa disponibilidade de água no solo, pois a redução no seu crescimento ocorre antes da redução no crescimento das raízes, o que resulta em um aumento na razão de biomassa entre raiz e parte aérea. A profundidade do

sistema radicular exerce um importante papel na capacidade das plantas em absorver água (Niklas, 1992). Sistemas radiculares densos e profundos são os principais responsáveis pela absorção de água quando a superfície do solo seca, possibilitando as plantas tolerarem o déficit hídrico (Oren & Sheriff, 1995).

Heckenberger *et al.* (1998) observou em plantas de mamona, sob condições de estresse hídrico, que a divisão e expansão celular foram afetadas, causando a maturação das folhas em tamanhos menores. Além disso, observou um declínio na condutância estomática, via “*feedforward*” devido ao aumento da densidade de estômatos nas folhas de plantas estressadas. A dinâmica do crescimento também pode ser afetada pelo estresse hídrico. Em muitas espécies, uma maior atividade de crescimento é observada durante o período noturno, devido ao aumento do potencial hídrico e do turgor causado pela redução da atividade estomática (Schurr, 1998). No caso específico de plantas de *Ricinus communis* são observados picos de crescimento durante a noite e valores mínimos de crescimento durante o período da tarde (Schurr *et al.*, 2000).

1.2. Influência do déficit hídrico sobre o processo fotossintético

A taxa fotossintética é determinada pela interação de vários processos e sistemas: (1) absorção de luz, transporte de elétrons e síntese de ATP e NADPH associado com a membrana do tilacoíde, (2) a capacidade das enzimas do Ciclo de redução de carbono (PCR) no estroma do cloroplasto para a regeneração da ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP) e da ribulose bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) para a assimilação de CO₂ e (3) consumo de assimilados para evitar a inibição da fotossíntese pelos produtos ou escassez de fosfato no estroma (Lawlor, 1995a). Uma regulação eficiente da assimilação de carbono, sob variável disponibilidade de água,

depende da habilidade da planta para manter um equilíbrio entre esses processos, sendo que o fluxo através de cada componente do processo é um balanço com os outros (Geiger & Servaites, 1994).

Uma das primeiras mudanças fisiológicas do estresse hídrico ocorre no processo de fotossíntese (Chaves, 1991; Lawlor, 1995b). Porém, há controvérsias sobre as mudanças fisiológicas pelas quais o estresse hídrico reduz a assimilação fotossintética de CO₂ (Flexas & Medrano, 2002; Lawlor & Cornic, 2002). Dois efeitos principais são considerados: restrição à difusão de CO₂ para dentro da folha, causado pelo fechamento estomático, e a inibição do metabolismo do carbono (Tezara *et al.*, 1999).

Entretanto, há substancial consenso de que a reduzida difusão de CO₂ da atmosfera para o local de carboxilação é a principal causa para o decréscimo da fotossíntese na maioria das condições de estresse hídrico (Chaves & Oliveira, 2004; Flexas *et al.*, 2004). A redução da capacidade de difusão na folha é devida a dois componentes que são regulados quase simultaneamente, o fechamento estomático e a redução na condutância do mesófilo (Flexas *et al.*, 2006).

O fechamento estomático é considerado como uma das respostas iniciais da planta à escassez de água no solo (Sharkey, 1990; Chaves, 1991, Cornic & Massaci, 1996). O estômato fecha em resposta ao declínio no turgor e/ou potencial hídrico da folha (Ludlow, 1980) ou à baixa umidade atmosférica (Schulze *et al.*, 1986; Maroco *et al.*, 1997). A resposta estomática freqüentemente é mais associada ao conteúdo de água no solo do que ao *status* hídrico da folha, e o ácido abscísico (ABA) foi identificado como um dos sinais químicos envolvidos na regulação do funcionamento estomático (Davies & Zang, 1991). Quando as raízes entram em contato com a

superfície seca do solo iniciam uma série de respostas adaptativas, como o fechamento estomático, antes que o status hídrico da planta decline. A regulação do fechamento estomático envolve uma sinalização de longa distância com transporte de ácido abscísico das raízes para as folhas (Gowing *et al.*, 1993; Davies, Kudoyarova & Hartung, 2005; Dodd, 2005).

A redução da condutância do mesófilo tem recentemente sido reconhecida como uma importante causa para a redução da difusão de CO₂, sob seca (Flexas *et al.*, 2002; Warren *et al.*, 2004). Algumas observações sugerem que uma regulação eficiente e rápida da condutância do mesófilo ao CO₂, em resposta a variação das condições ambientais, podem estar relacionadas à expressão e/ou regulação das aquaporinas na membrana plasmática (Hanba *et al.*, 2004; Uehlein *et al.*, 2003).

Limitações metabólicas da fotossíntese podem ocorrer por reduções na regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato, RuBP, (Gimenez *et al.*, 1992; Gunasekera & Berkowitz, 1993); na síntese de ATP (Tezara *et al.*, 1999; Lawlor, 2002), na fotoquímica foliar (Cornic & Massaci, 1996; Flexas *et al.*, 1999) e na atividade da Rubisco (Medrano *et al.*, 1997; Tezara *et al.*, 1999; Maroco *et al.*, 2002). Além disso, o declínio na fotossíntese pode estar associado ao decréscimo na eficiência quântica do fotossistema II, e essa redução é considerada um ajuste na maquinaria fotossintética à redução na disponibilidade de recursos (Chaves *et al.*, 2002). De fato, algumas reações do metabolismo fotossintético têm sua eficiência reduzida devido à baixa concentração de CO₂ (Cornic & Fresneau, 2002).

Com a redução da condutância estomática, a atividade fotoquímica é reduzida, a atividade da Rubisco pode ser afetada, a redução na capacidade de regeneração da RuBP é acompanhada pela redução na síntese de ATP e a

fotoinibição eventualmente ocorre quando a seca é muito severa e o fechamento estomático é quase completo (Flexas & Medrano, 2002). Este padrão de mudança metabólica suporta a asserção de Cornic (2000), de que o fechamento estomático é a primeira causa da redução da taxa fotossintética, mas induz a limitações metabólicas ou a redução na eficiência da fotossíntese.

As respostas da fotossíntese e da condutância estomática ao déficit hídrico podem ser separadas pela exposição de folhas estressadas ao ar contendo concentrações altas de CO₂ (Sharkey *et al.*, 1982). Lawlor & Cornic (2002) propõem que dois diferentes padrões ou síndromes de respostas fotossintéticas ao déficit hídrico podem ocorrer (tipo I e tipo II). As definições destas síndromes utilizam o conteúdo relativo de água na folha (RWC) como o indicador da intensidade do déficit hídrico no nível foliar.

Em ambas plantas tipo I e tipo II, a fotossíntese decresce à medida que o RWC torna-se baixo devido ao aumento do déficit hídrico. Na resposta tipo I, elevadas concentrações ambientes de CO₂ restabelecem a fotossíntese, vencendo a reduzida condutância estomática. Então claramente os processos do mesofilo não foram inibidos. Assim, o controle ocorre inteiramente via condutância estomática. Entretanto, na resposta tipo II, o potencial fotossintético é mais sensível ao decréscimo do RWC e elevadas concentrações de CO₂ não restabelecem a fotossíntese, mostrando que o potencial fotossintético é limitado por fatores metabólicos.

Em resumo, a resposta da fotossíntese à escassez de água no solo pode ser dividida em duas fases distintas: durante o primeiro estágio, a fotossíntese é principalmente limitada pela restrição à difusão de CO₂ (decréscimo na condutância

estomática mais decréscimo na condutância do mesofilo); durante a segunda fase, caracterizada pela reduzida condutância estomática, um prejuízo metabólico geral ocorre. A regulação da eficiência e a proteção do processo de fotossíntese envolvem mudanças na absorção de luz, no metabolismo de carbono, ativação de sistemas antioxidantes contra radicais livres e aumento de mecanismos protetores para dissipação do excesso de energia excitada (Krause, 1988).

A fotossíntese é um dos principais determinantes para a produtividade e sobrevivência das plantas. No atual cenário de mudança climática, o conhecimento da seqüência de eventos levando a limitação ou inibição da assimilação de carbono é fundamental, devido a sua influência sobre a performance vegetal (Chaves *et al.*, 2003).

A mamona, *Ricinus communis*, é considerada uma cultura extremamente tolerante à seca, amplamente distribuída em diversas regiões do Brasil. A destacada importância econômica do óleo extraído das sementes devido à grande utilidade na indústria químico-farmacêutica aliada à sua utilização na produção de biodiesel tem recebido especial atenção e incentivado o seu cultivo. Além da destacada importância econômica, a mamona apresenta uma interessante importância ecológica, pois a sua ocorrência em áreas contaminadas por metais pesados parece indicar seu potencial fitorremediador, podendo ser utilizada na recuperação de áreas degradadas.

O objetivo geral deste estudo foi analisar os efeitos do déficit hídrico sobre o processo de fotossíntese e de crescimento de *Ricinus communis*, avaliadas em duas fases experimentais distintas, que serão apresentadas em dois capítulos.

A primeira parte do estudo (capítulo II) compreende a análise dos efeitos sobre o processo fotoquímico da fotossíntese e padrão de crescimento de plantas de mamona, com principal ênfase nos efeitos do déficit hídrico sobre o aparato fotossintético. Com a análise das respostas da fluorescência da clorofila pretende-se responder a seguinte questão: As variações observadas estão relacionadas a mecanismos de proteção ou refletem mudanças nas propriedades do sistema fotossintético de mamona?

Na segunda etapa (capítulo III) os efeitos sobre o processo bioquímico da fotossíntese e padrão de crescimento foram avaliados para analisar as possíveis limitações ao processo fotossintético e as estratégias utilizadas por plantas de mamona para tolerar reduções na disponibilidade de água no solo.

CAPÍTULO II

ALTERAÇÕES NA CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* DE PLANTAS DE *Ricinus communis* SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO DO SOLO

2.1. RESUMO

A baixa disponibilidade hídrica é um dos fatores de maior impacto sobre o crescimento e a produtividade vegetal. A baixa disponibilidade de CO₂, causada pelo fechamento estomático, pode reduzir a eficiência do fotossistema II para manter um adequado balanço entre o transporte de elétrons e o metabolismo de carbono. As respostas de plantas de *Ricinus communis* submetidas à redução na disponibilidade de água no solo foram avaliadas através de medições da condutância estomática e da fluorescência da clorofila *a*. A redução do conteúdo gravimétrico de água no solo e do potencial hídrico das folhas de plantas estressadas foi acompanhada pela redução da condutância estomática e da transpiração. Durante o período experimental não foram observadas reduções na máxima eficiência quântica do PSII

em distribuir os elétrons (F_v/F_m). A eficiência da antena do PSII (F_v'/F_m') foi reduzida nas plantas estressadas, sendo acompanhada pelo aumento da dissipação de energia, dado pelo aumento na fluorescência mínima (F_0), *quenching* não-fotoquímico (NPQ) e na fração de energia que é dissipada termalmente (D) e reduções dos processos fotoquímicos, com o decréscimo na taxa de transporte de elétrons (ETR), no *quenching* fotoquímico (qP) e na fração de energia absorvida pelo PSII que é utilizada no processo fotoquímico (P). Nesse sentido, sob condições de déficit hídrico, a absorção de energia pela antena foi reduzida e um aumento nos mecanismos de dissipação de energia parece regular a atividade do PSII, o que confere proteção ao aparato fotossintético de plantas de mamona.

2.2. INTRODUÇÃO

A baixa disponibilidade hídrica é um dos maiores limitadores da produtividade e do crescimento vegetal. Vários trabalhos têm abordado a importância do fechamento estomático na regulação da fotossíntese, especialmente em condições de seca suave, ao restringir a disponibilidade de CO_2 para o metabolismo (Chaves, 1991; Cornic, 2000). Outros estudos sugerem que a fotossíntese é regulada por limitações metabólicas, através da redução da regeneração da RuBP (Gimenez *et al.*, 1992; Gunasekera & Berkowitz, 1993), da atividade da Rubisco (Medrano *et al.*, 1997; Maroco *et al.*, 2002), da produção de ATP (Tezara *et al.*, 1999; Lawlor & Cornic, 2002), da atividade do fotossistema II (PSII) e do transporte de elétrons (Krause, 1988; Long *et al.*, 1994).

As reações fotoquímicas primárias da fotossíntese, como o transporte de elétrons ao longo da membrana do tilacoíde, são altamente eficientes e consideradas

resistentes à seca (Cornic *et al.*, 1989; Epron & Dreyer, 1992), e variações na atividade do PSII podem ser explicadas por mudanças na disponibilidade de substrato (Cornic & Fresneau, 2002; Chaves & Oliveira, 2004). A baixa disponibilidade de CO₂, causada pelo fechamento estomático, pode reduzir a eficiência do fotossistema II em manter um adequado balanço entre o transporte de elétrons, o metabolismo de carbono e o consumo de ATP e NADPH (Krause & Weis, 1991; Tezara *et al.*, 2005).

Investigações baseadas na contribuição da fluorescência da clorofila têm demonstrado que o fotossistema II é resistente ao déficit hídrico, não sendo afetado (Lu & Zhang, 1998; Shangguan *et al.*, 2000) ou sendo afetado somente sob condições de severa seca (Saccardy *et al.*, 1998). A análise das mudanças na emissão de fluorescência da clorofila *a* é uma poderosa ferramenta para estimar a taxa de transporte de elétrons nas folhas (Genty *et al.*, 1989), e a dissipação térmica de energia no PSII (Krause & Weiss, 1991; Demmig-Adams *et al.*, 1996).

A eficiência do PSII é determinada pela eficiência com que o fóton absorvido pode alcançar o centro de reação e pela proporção de centros de reação que são capazes de transferir um elétron para outro componente da membrana (Genty, 1989). Reduções na eficiência do PSII são acompanhados por mecanismos protetores, que são uma importante estratégia em condições de estresse hídrico. Tal proteção pode ser alcançada pela regulação da dissipação térmica por diferentes mecanismos, envolvendo o ciclo das xantofilas (Demmig-Adams *et al.*, 1995), o *turnover* da proteína D1 (Kato *et al.*, 2002) e o ciclo água-água (Asada, 1999). Estes mecanismos protetores competem com o processo fotoquímico pela energia absorvida e evitam danos a maquinaria fotossintética.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar os efeitos da redução na disponibilidade de água no solo em plantas de *Ricinus communis* e verificar possíveis alterações nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, relações hídricas e concentração de pigmentos fotossintetizantes. Com a análise das respostas da fluorescência da clorofila pretende-se responder a seguinte questão: será que as variações observadas estão relacionadas a mecanismos de proteção ou refletem mudanças nas propriedades do sistema fotossintético de mamona?

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1. Condições de Cultivo e Tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de outubro de 2005 a janeiro de 2006, com plantas de *Ricinus communis* (L.), cultivar BRS 149 Nordestina, adquiridas da Embrapa CNPA (Campina Grande/PB).

As sementes de mamona foram germinadas em câmara de germinação sob temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas luz/escuro. Após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos plásticos de 7L (1 planta por vaso) contendo substrato solo comercial (TerraPreta®):areia (1:1) e irrigadas diariamente com água. Para evitar a perda de água do solo por evaporação o substrato foi coberto com polietileno expandido.

As condições de temperatura e umidade do ar, durante o período experimental, foram registradas com um *data logger* (Pingüim, RHT) instalado na casa de vegetação, na altura média das plantas. A irradiância média na casa de vegetação

onde as plantas foram cultivadas foi de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (redução de 80% da irradiância externa).

Após um período de aclimação das plantas (38 dias após a transferência para os vasos), foram iniciados os tratamentos que, consistiram em plantas hidratadas (controle) e plantas estressadas. As plantas controle continuaram a receber irrigação diária para manter a quantidade de água no solo em 90% da capacidade de vaso. O déficit hídrico foi imposto pela redução lenta e gradual da reposição de água, a partir da quantidade de água transpirada.

As avaliações dos efeitos do déficit hídrico foram iniciadas nove dias após a aplicação dos tratamentos. Foram realizadas medições semanais em cinco plantas por sistema de irrigação, utilizando-se a folha mais jovem, completamente expandida em todos os parâmetros avaliados.

2.3.2. Conteúdo gravimétrico de água no solo

O conteúdo gravimétrico de água no solo foi registrado diariamente a fim de repor a quantidade de água transpirada nas plantas hidratadas e acompanhar a redução na disponibilidade de água no solo nas plantas submetidas à redução da irrigação. O conteúdo gravimétrico de água no solo foi avaliado através da pesagem diária dos vasos e aplicação da equação:

$$\theta_m = m_{su} - m_{ss} / m_{ss}$$

Onde, m_{su} é a massa de matéria úmida do solo estimada anteriormente, no teste de capacidade de vaso, e m_{ss} é a massa de matéria seca do solo correspondente à água consumida (transpirada) pelas plantas.

2.3.3. “Status” hídrico das plantas

O grau de déficit hídrico das plantas foi avaliado através de medições do potencial hídrico das folhas (ψ_w) usando uma câmara de pressão (modelo 3005, Soilmoisture Equipment Co., EUA). As medições do potencial hídrico das plantas foram realizadas posteriormente às medições de fluorescência da clorofila, durante o período da tarde (15 horas).

2.3.4. Condutância estomática e transpiração

A condutância estomática e a transpiração foram monitoradas semanalmente, em dias ensolarados, no período das 9 horas às 11 horas da manhã, com auxílio de um porômetro estacionário (LI-1600, LICOR).

2.3.5. Fluorescência da clorofila *a*

Após as medições de condutância estomática, foram realizadas medições de fluorescência da clorofila em folhas intactas, com auxílio de um fluorômetro de pulso modulado sob condições luz e temperatura ambiente (Hansatech, FMS 2). As folhas foram inicialmente pré- adaptadas ao escuro por 60 minutos para determinação da fluorescência inicial (F_0). Para determinação da fluorescência máxima (F_m), a folha pré-adaptada ao escuro foi submetida a um pulso de luz saturante por 0,5 segundos. A máxima eficiência fotoquímica do PSII (F_v/F_m) foi estimada como a razão da fluorescência variável (F_v) para a fluorescência máxima. Após as medições em folhas adaptadas ao escuro, a luz actínica foi ligada durante 2 minutos. Quando a fluorescência foi constante (F_s), a máxima fluorescência no estado adaptado à luz

(F_m') foi medida pela aplicação de um pulso de luz saturante por 0,5 segundos. Após as medições de F_s e F_m' , a folha foi temporariamente adaptada ao escuro (luz actínica desligada) e um pulso de 5 segundos de luz vermelha foi aplicado para determinação da mínima fluorescência (F_0'). A partir dessas medidas os seguintes parâmetros foram calculados: eficiência da antena do PSII, F_v'/F_m' , *quenching* fotoquímico (qP) e *quenching* não-fotoquímico (NPQ). A taxa de transporte de elétrons foi calculada pela equação, $ETR = F_v'/F_m' * 0.5 * PPFD * 0.84$. PPFD corresponde a densidade de fluxo da radiação fotossinteticamente ativa incidente; 0,5 é um fator que explica a distribuição da energia entre os dois fotossistemas, e 0,84 é a porcentagem de irrâdiancia que é absorvida pela folha. Além disso, a fração de energia utilizada no processo fotoquímico foi calculada através da seguinte equação: ($P = F_v'/F_m' * qP$) e a fração de energia dissipada por calor por: ($D = 1 - F_v'/F_m'$), de acordo com o modelo proposto por Demmig-Adams *et al.* (1996).

2.3.6. Conteúdo de Clorofila

Após a excisão das folhas para medição do potencial hídrico, discos foliares foram retirados para determinação do conteúdo de clorofila. A extração foi realizada em etanol (100%), e a leitura das absorbtâncias em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 649 e 665 nanômetros. A concentração de clorofila foi calculada de acordo com as equações de Wintermann & De Mots (1965).

2.3.7. Medidas de crescimento

A taxa de crescimento da parte aérea começou a ser avaliada 38 dias após a emergência, através de medidas da altura da parte aérea feitas com uma régua

graduada em milímetros. Posteriormente, essas medidas foram avaliadas semanalmente. Antes do desmonte do experimento o diâmetro do caule, na altura das folhas cotiledonares, foi obtido com auxílio de um paquímetro digital.

Com o desmonte do experimento, a parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular para obtenção da massa de matéria seca de cada componente da planta individualmente. A área foliar final das plantas controle e estressadas foi avaliada, utilizando um medidor de área foliar (LICOR 3100).

Após, todo o material foi colocado em estufa e mantido a 60°C até massa constante, sendo então pesado. A partir dos valores de massa de matéria seca da parte aérea e raízes, foi calculada a razão entre biomassa total de raízes e parte aérea, visando caracterizar os padrões de alocação de matéria seca.

2.3.8. Delineamento Experimental Completamente Casualizado

As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas através da análise da magnitude das médias e dos desvios padrão da média em cinco plantas por sistema de irrigação através de medições semanais dos parâmetros avaliados.

2.4. RESULTADOS

As variações da temperatura e do déficit de pressão de vapor (DPV) na casa de vegetação podem ser observadas na FIGURA 1. O experimento foi realizado durante o verão e as temperaturas próximo ao meio-dia foram de 36° a 42°C.

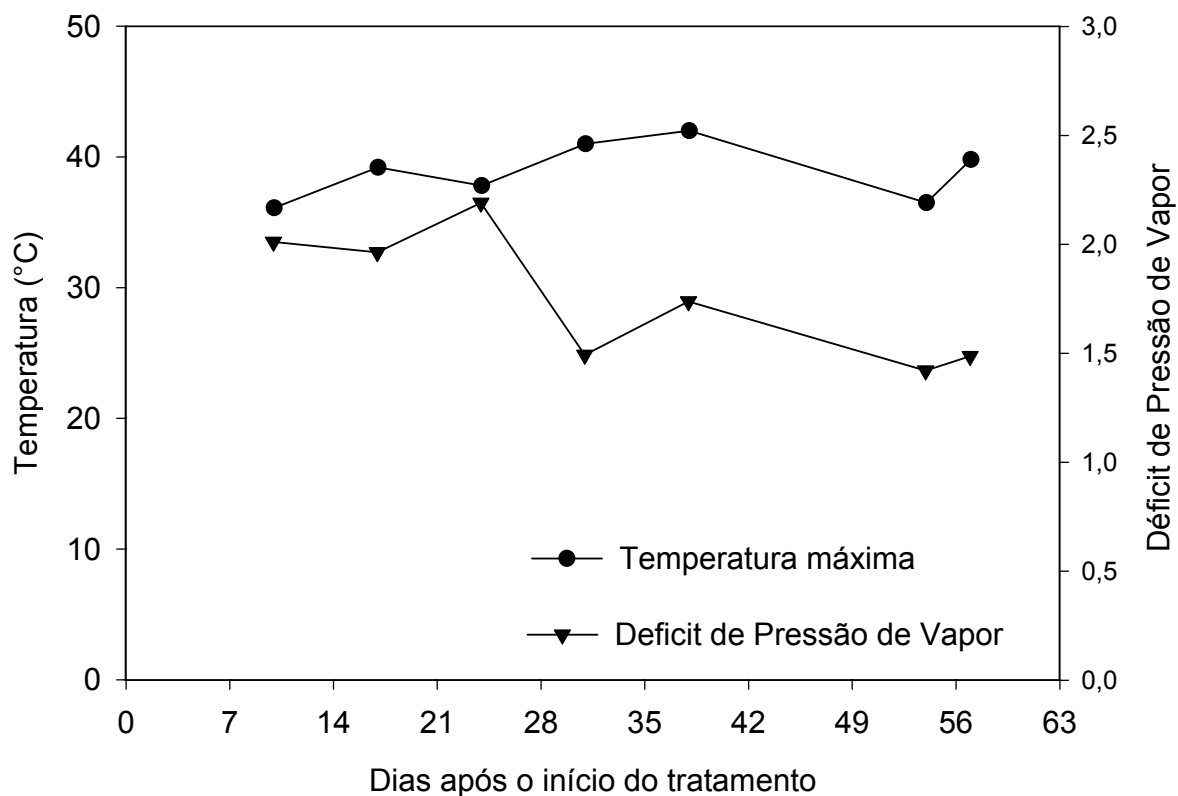


FIGURA 1: Variação da temperatura do ar no período do meio dia e déficit de pressão vapor no período entre as 9 e 11 horas da manhã dentro da casa de vegetação durante o período experimental. Porto Alegre, RS, 2005/06.

A partir dos 31 dias após o início do tratamento observa-se uma redução no déficit de pressão de vapor do ar. Durante a execução do experimento, um período de precipitação interrompeu as medições semanais, ocorrendo um intervalo de quinze dias nas medições (entre os 49 e 56 dias após o início do tratamento).

O déficit hídrico resultou numa redução do conteúdo gravimétrico de água no solo (θ_m) e no potencial hídrico da folha (ψ_w) ao longo do período experimental (FIGURA 2A e B). Ao final do experimento, as plantas estressadas apresentaram valores de $\psi_w = -1,6$ MPa e $\theta_m = 0,268$ g/g⁻¹ enquanto que nas plantas controle os valores foram de $\psi_w = -0,6$ MPa e $\theta_m = 0,28$ g/g⁻¹. Essa redução nos valores de θ_m das plantas controle, no final do período experimental, foi causada pela limitação imposta pelo tamanho do vaso ao crescimento das raízes. Devido à saturação do espaço por raízes, a quantidade de água disponível para absorção pelas plantas foi limitado, reduzindo assim o θ_m .

Acompanhando a redução do conteúdo gravimétrico de água no solo e do potencial hídrico da folha das plantas em déficit hídrico, os valores de condutância estomática (g_s) e transpiração (E) foram reduzidos (FIGURA 3). Os resultados indicam que quando o potencial hídrico das plantas estressadas foi reduzido a valores inferiores a -1,0 MPa, a condutância estomática e a transpiração foram drasticamente reduzidas, indicando uma forte regulação estomática para evitar a excessiva perda de água e, provavelmente sendo responsável pelo decréscimo observado no potencial hídrico das plantas em estresse hídrico. Ao final do período experimental, observa-se que os valores chegam próximos a zero na condutância estomática e na transpiração das plantas estressadas.

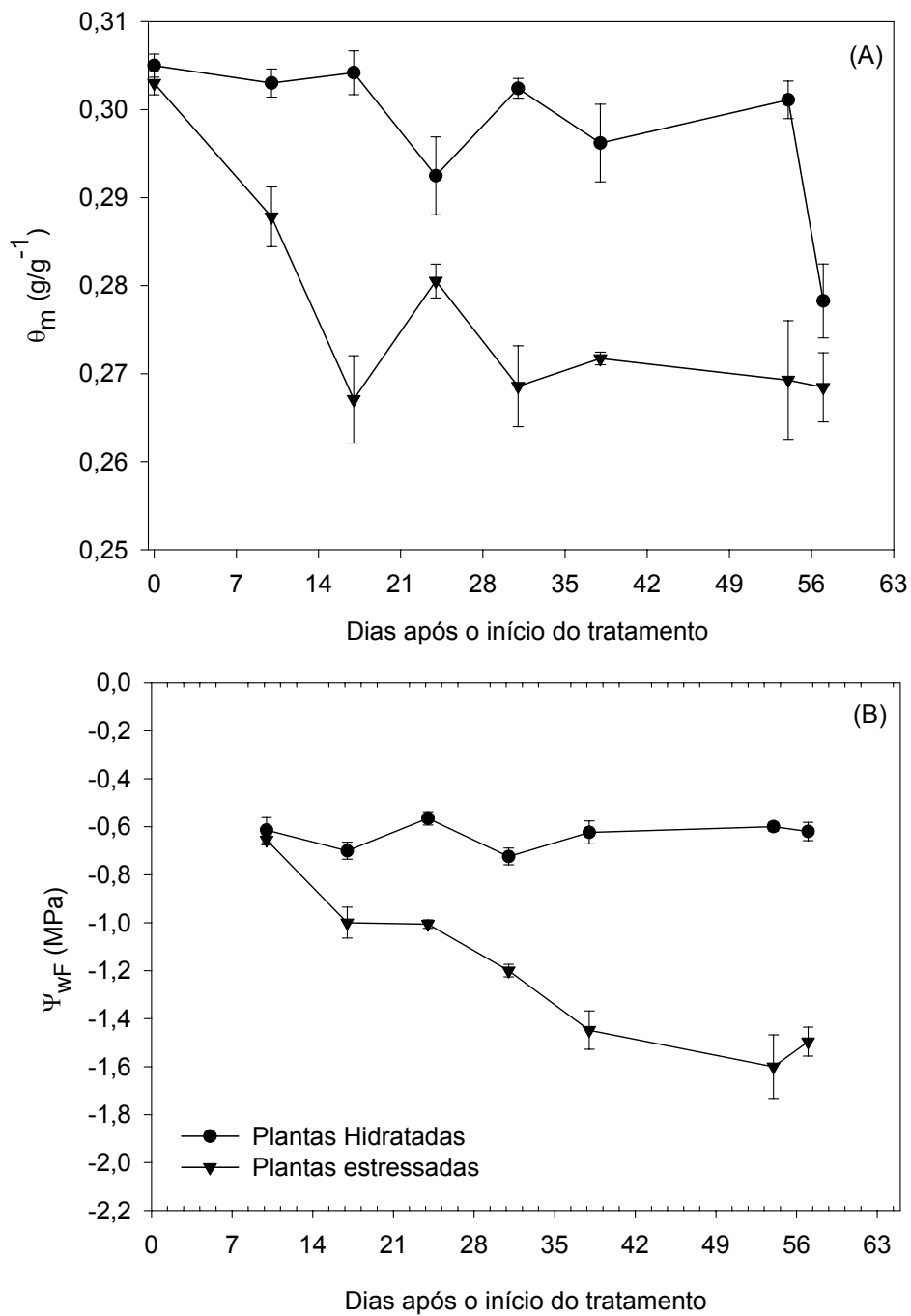


FIGURA 2: Conteúdo gravimétrico de água no solo (A) e potencial hídrico das folhas (B) em diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.

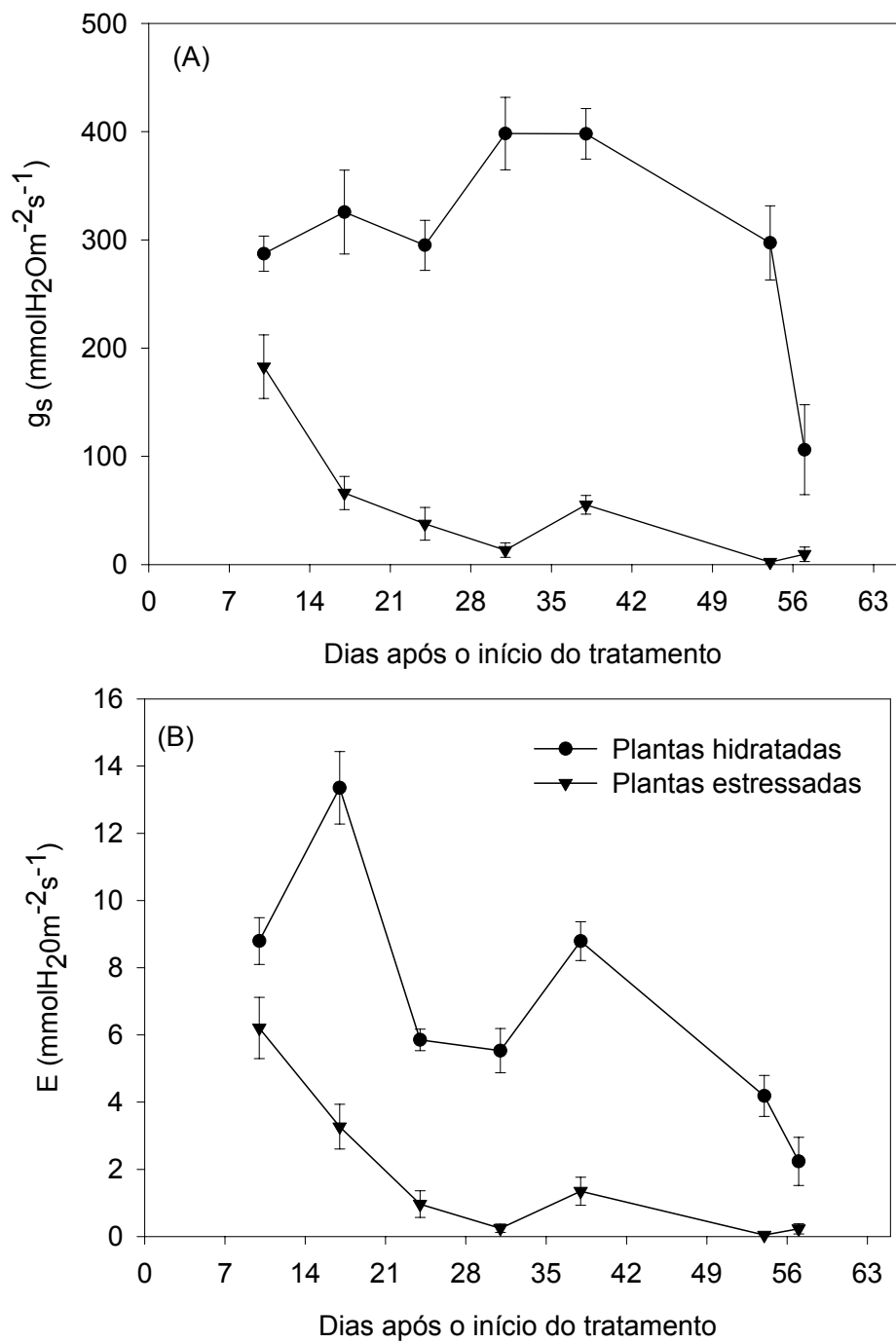


FIGURA 3: Variação da condutância estomática (A) e taxa de transpiração (B) de plantas de mamona em função da redução na disponibilidade de água no solo. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.

Nas plantas controle é possível observar, ao longo do período experimental, uma variação nas taxas de condutância estomática e transpiração. Aos 31 dias após o início do tratamento observa-se um aumento nos valores de condutância estomática e uma redução da taxa de transpiração causada pela redução no déficit de pressão de vapor (FIGURA 1 e 3A e B).

Com relação aos parâmetros de fluorescência da clorofila, a máxima eficiência quântica do PSII em distribuir os elétrons (F_v/F_m) permaneceu constante ao longo do período experimental, não apresentando diferenças entre as plantas controle e estressadas (FIGURA 4A). Porém, a eficiência da antena do PSII (F_v'/F_m') das plantas estressadas foi reduzida em 15% a partir dos 31 dias após o início do tratamento, em relação às plantas controle (FIGURA 4B). A redução na relação F_v'/F_m' foi acompanhada pela redução de 34%, ao final do período experimental, na razão clorofila *a*/clorofila *b* das plantas estressadas em relação às plantas hidratadas (FIGURA 6).

Os processos fotoquímicos das plantas em estresse hídrico foram progressivamente reduzidos ao longo do período experimental, sendo acompanhados pelo aumento da dissipação de energia. Ao final do período experimental, ETR, qP e P sofreram reduções de 45%, 34% e 45%, respectivamente, em relação às plantas controle (FIGURA 4D, E e 5A), enquanto os parâmetros F_0 , NPQ e D, apresentaram um aumento de 26%, 16% e 14%, respectivamente (FIGURA 4C, F e 5B).

Nas plantas hidratadas, observou-se, aos 31 dias após o início do tratamento, uma redução na sua atividade fotoquímica expressa pelo decréscimo nos valores de qP, P e ETR (FIGURA 4D, E e 5A), sendo que essa redução foi acompanhada por

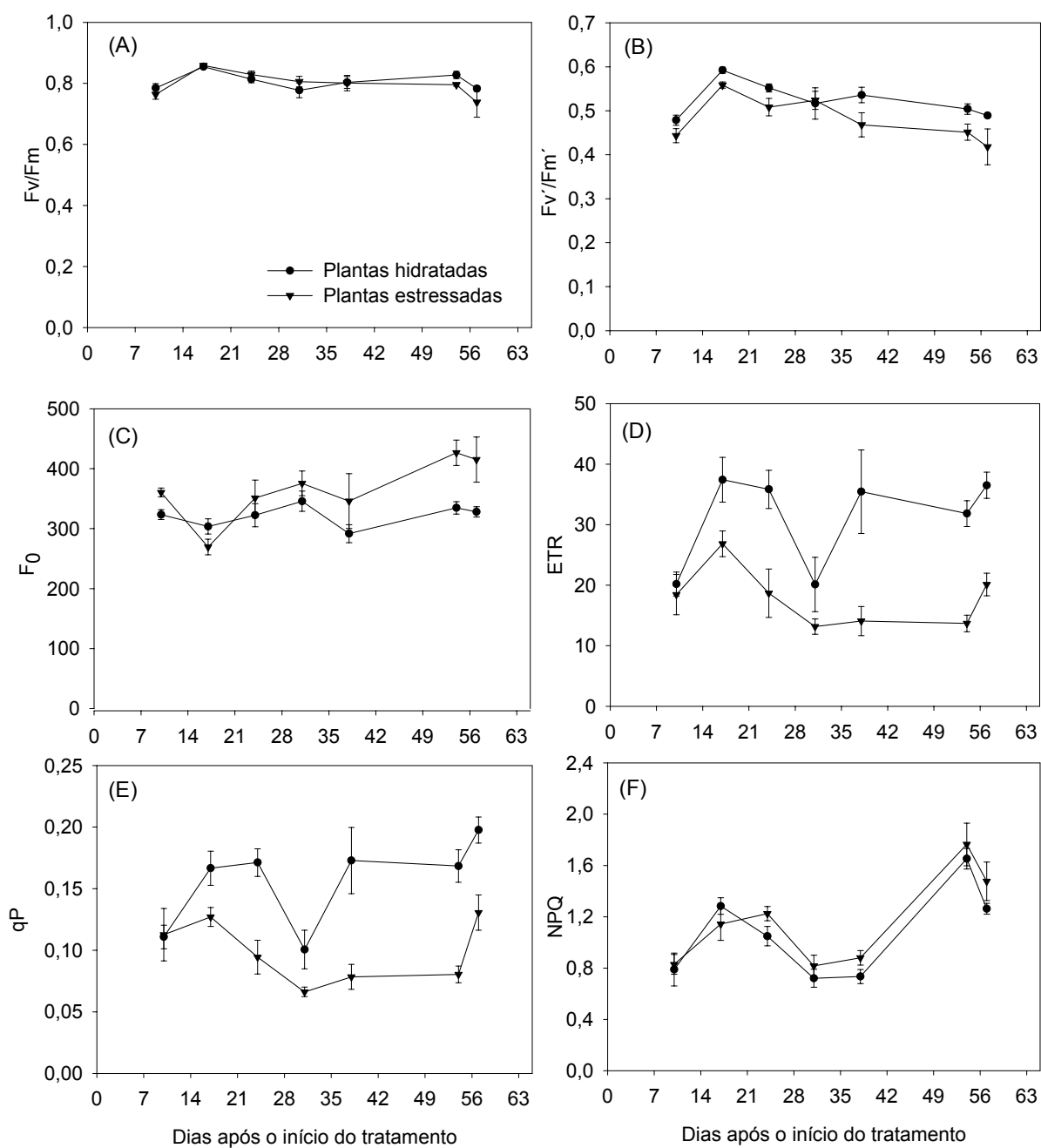


FIGURA 4: Respostas dos parâmetros de fluorescência de plantas de mamona após a imposição do déficit hídrico. F_v/F_m , máxima eficiência quântica do PSII (A); F_v'/F_m' , eficiência da antena do PSII (B); F_0 , fluorescência mínima (C); ETR, taxa de transporte de elétrons (D); qP, *quenching* fotoquímico (E) e NPQ, *quenching* não-fotoquímico (F). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.

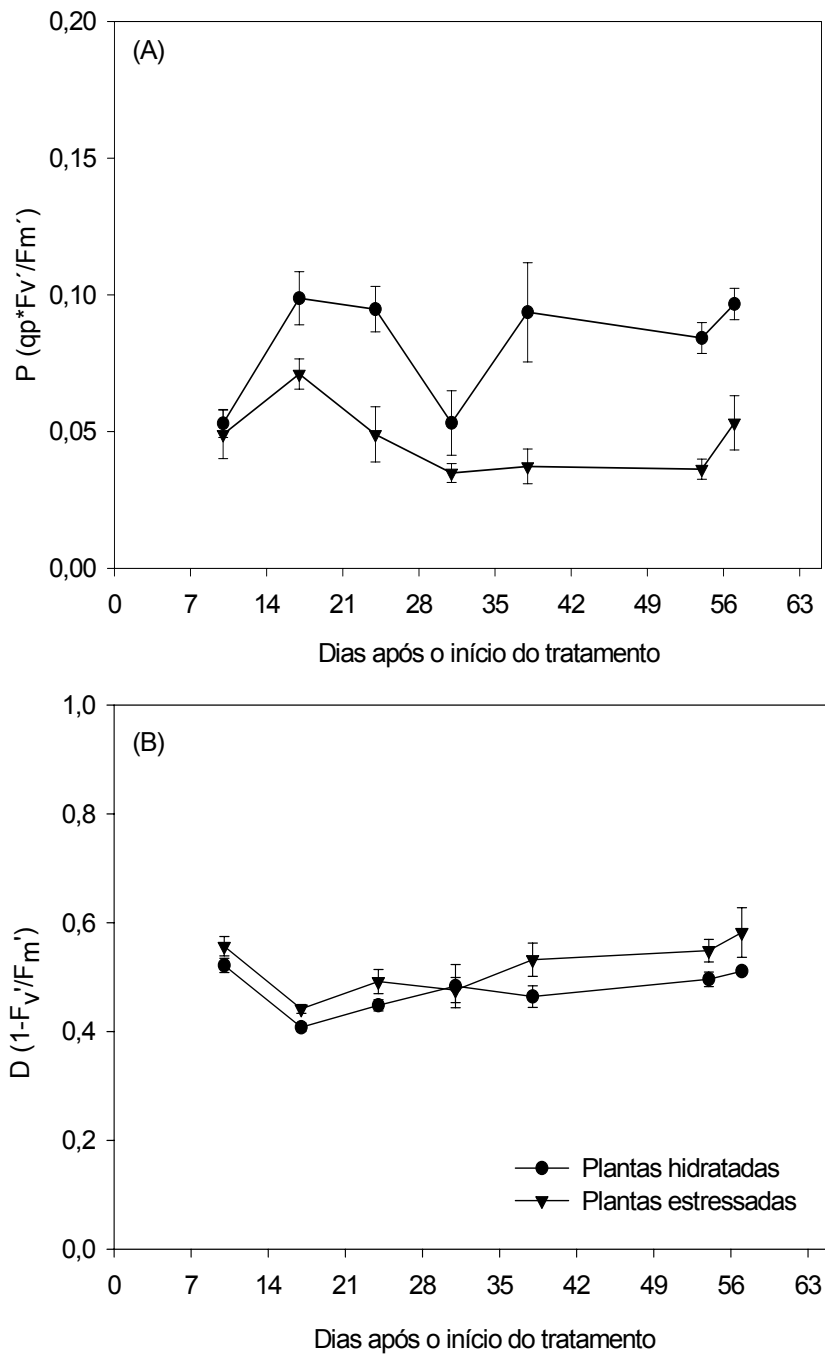


FIGURA 5: Variação na fração de energia absorvida na antena que é utilizada no processo fotoquímico (A) e energia que é dissipada por calor (B) em folhas de mamona após a imposição do déficit hídrico. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.

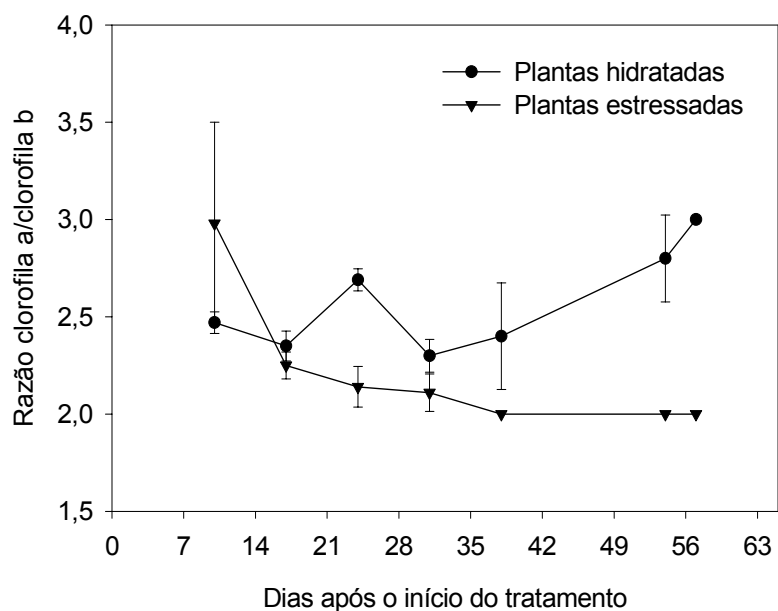


FIGURA 6: Efeitos do déficit hídrico sobre a concentração de clorofila, dada pela razão clorofila a/clorofila b. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2005/06.

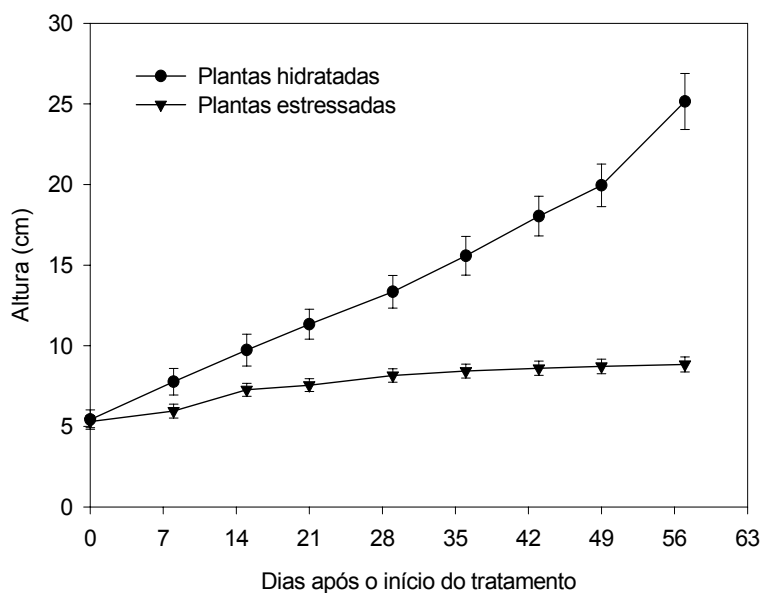


FIGURA 7: Efeitos do déficit hídrico sobre a altura da parte aérea de plantas de mamona. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média para dez plantas (hidratadas) e vinte plantas (estressadas). Porto Alegre, RS, 2005/06.

TABELA 1: Medidas de biomassa da parte aérea, biomassa da raiz, razão biomassa de raiz/biomassa da parte aérea, área foliar total (cm²) e espessura do caule (mm) em plantas hidratadas e estressadas de mamona, ao final do período experimental. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média (n=10 para controle e 20 para tratamento). Porto Alegre, RS, 2005/06.

	Biomassa da Parte Aérea (g)	Biomassa da Raiz (g)	Razão Biomassa Raiz/Parte Aérea	Área foliar total (cm ²)	Espessura do caule (mm)
Hidratadas	10,47 \pm 0,938	6,29 \pm 0,644	0,6015 \pm 0,05	1626 \pm 143,2	9,87 \pm 0,33
Estressadas	1,372 \pm 0,108	2,174 \pm 0,190	1,58 \pm 0,099	89,5 \pm 13,15	6,47 \pm 0,17

aumento nos valores de NPQ, F_0 , D (FIGURA 4C, F e 5B) e uma redução em F_v'/F_m' (FIGURA 4B). Neste dia, os valores observados nas plantas irrigadas foram similares aos das plantas em condições de déficit hídrico.

Na FIGURA 7 E TABELA 1 é possível observar os efeitos da redução na disponibilidade de água sobre o crescimento das plantas. A alta disponibilidade de água oportunizou uma maior altura da parte aérea. As reduções no crescimento da parte aérea causada pelo déficit hídrico vieram acompanhadas de reduções na área foliar, espessura do caule e aumento da razão entre biomassa da raiz e parte aérea.

2.5. DISCUSSÃO

A redução na condutância estomática nas plantas estressadas de *Ricinus communis* indica a restrição da perda de água pela transpiração e previne um grande decréscimo no potencial hídrico da planta. O controle estomático da transpiração é um mecanismo utilizado por muitas espécies para restringir a perda de água e superar os períodos de seca (Naves-Barbiero *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003) e parece indicar um comportamento conservador de plantas de mamona para evitar a excessiva perda de água.

O decréscimo da condutância estomática acompanhou o padrão de redução do conteúdo gravimétrico de água no solo, confirmando a tendência do mecanismo estomático acompanhar a quantidade de água no solo e fechar antes que grandes alterações no *status* hídrico da planta ocorressem. A resposta estomática ao decréscimo de água no solo está relacionada a um mecanismo de sinalização da raiz para as folhas através do fluxo transpiratório (Davies & Zhang, 1991).

Baseados nas medidas da fluorescência da clorofila *a*, plantas de mamona submetidas a déficit hídrico do solo apresentaram os valores da máxima eficiência quântica do PSII (F_v/F_m) constantes em relação às plantas controle. A eficiência do PSII em condições de escuro, expressa pela razão F_v/F_m , em experimentos realizados em casa de vegetação geralmente não é afetada, sendo considerada resistente a condições de estresse hídrico (Praxedes *et al.*, 2006; Tezara *et al.*, 2005). Em plantas crescendo em condições naturais, F_v/F_m geralmente é reduzido pelo déficit hídrico (Tezara *et al.*, 1999, 2003; Lawlor & Cornic, 2002). Essa redução sugere que as condições microclimáticas no campo têm um marcado efeito sobre a atividade do PSII, provavelmente relacionado às condições de estresse hídrico estarem acompanhadas por altas temperaturas e altas irradiancias. Durante o experimento, o déficit hídrico foi acompanhado por altas temperaturas na casa de vegetação. Entretanto, neste experimento, as plantas foram cultivadas sob baixa irradiancia ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Nossos resultados indicam que o decréscimo na eficiência do PSII (F_v/F_m) observado em outros experimentos está mais relacionado aos danos causados por excesso de irradiancia, e denominados de fotoinibição (Björkman & Powles, 1984; Demmig-Adams *et al.*, 1996), do que por excesso de temperatura.

A manutenção dos valores de F_v/F_m em resposta ao déficit hídrico pode ainda estar relacionada a um ajuste osmótico, à continuidade do ganho de carbono (requerendo continuidade do transporte de elétrons) ou à manutenção do metabolismo, dependendo de aceptores alternativos para o transporte de elétrons (Cornic & Briantais, 1991; Flexas *et al.*, 1999). O aumento em F_0 paralelo à

manutenção dos valores em F_m (dados não apresentados) contribuiu para manter F_v/F_m constante nos dois tratamentos de irrigação. O aumento observado em F_0 nas plantas estressadas está relacionado a uma menor taxa de transferência de energia da antena do fotossistema para os centros de reação, acompanhada pelo aumento da dissipação da energia excitada (Krause, 1988; Angelopoulos *et al.*, 1996). Além disso, temperaturas maiores que 40° podem causar aumento em F_0 , situação que ocorreu na casa de vegetação durante a realização do experimento.

O aumento em F_0 foi acompanhado por reduções em F_v'/F_m' . De fato, mudanças em F_v'/F_m' são causadas pelo aumento da dissipação térmica de energia na antena, levando a alterações na eficiência com que a energia é liberada para os centros de reação do PSII (Demmig-Adams & Adams, 1996; Demmig-Adams *et al.*, 1996). A redução de F_v'/F_m' reflete uma regulação da atividade do PSII através da redução da absorção de energia na antena e redução dos processos fotoquímicos da fotossíntese.

Decréscimos na eficiência do PSII podem ser causados pela acumulação de aceptores reduzidos, como, também, pelo aumento da dissipação termal do excesso de energia excitada, antes de alcançar os centros de reação do PSII (Demmig-Adams *et al.*, 1995). Como os processos fotoquímicos e não-fotoquímicos competem pela energia excitada, o aumento em um dos processos causa a redução em outro (Krause & Weis, 1991).

O *quenching* não-fotoquímico ocorre no nível dos centros de reação e do complexo antena do fotossistema II; a sua regulação ocorre pela redução da concentração de prótons no lúmen do tilacoíde. Se as clorofilas absorvem mais energia excitada do que pode ser utilizada no transporte de elétrons para produzir

ATP e NADPH, prótons são acumulados no lúmen e com o aumento da sua concentração vários processos são iniciados para proteger o PSII contra o excesso de energia (Pospíšil, 1997), causando o aumento da dissipação termal de energia.

O aumento da dissipação de energia (F_0 , NPQ e D) foi acompanhado pelo declínio nos parâmetros fotoquímicos (qP, P e ETR). A redução da atividade fotoquímica pode ocorrer em resposta à baixa concentração de CO_2 na folha, causada pelo fechamento estomático (Tezara *et al.*, 2005), pela redução da proporção de elétrons transportados para o centro de reação do PSII (Krause & Weis, 1991) ou ainda, causado pela alteração da atividade dos componentes da membrana do tilacoíde. Esta alteração pode ser resultante da liberação de cátions Ca^{+2} no lúmen do tilacoíde, causada pelo aumento na concentração de prótons, devido ao aumento da dissipação não fotoquímica de energia (Krieger & Weis, 1992,1993). A liberação de cátions de cálcio altera o estado redox da quinona A (Q_A) causando uma inibição da transferência de elétrons da Q_A para quinona B (Q_B) (Johnson *et al.*, 1995; Andréasson *et al.*, 1995). Além disso, decréscimo no transporte de elétrons pode ser regulado no nível do citocromo b_6f , que é considerado como a etapa reguladora do fluxo de elétrons na membrana do tilacoíde (Golding *et al.*, 2003).

Uma importante observação é pertinente com relação aos efeitos das condições de luminosidade em que as plantas foram cultivadas. Tendo em vista que a luminosidade na casa de vegetação foi de $200 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, pode-se afirmar que as plantas de mamona foram mantidas em condições de baixa luminosidade. Dessa forma, os valores observados nos parâmetros de fluorescência em *Ricinus communis* foram semelhantes aos observados por Demmig-Adams *et al.* (1996) em folhas de

Vinca minor cultivadas em condições de sombreamento. De fato, observa-se que, em plantas cultivadas em alta luminosidade, uma maior proporção de centros de reação do PSII permanecem oxidados do que em folhas que permanecem na sombra (Genty *et al.*, 1989).

Com relação à variação da fluorescência da clorofila nas plantas hidratadas, aos 31 dias após o início do tratamento, observam-se reduções nos componentes fotoquímicos e aumento da dissipação de energia. Este efeito é resultado da alta temperatura (41°C) observada neste dia que foi responsável pela redução observada no processo fotoquímico (Bilger, Schreiber & Lange, 1984). Além disso, a redução no déficit de pressão de vapor observada neste dia, foi responsável pela redução observada na taxa de transpiração.

Nesse sentido, as diferenças nas respostas da fluorescência da clorofila, composição de pigmentos fotossintetizantes e relações hídricas de folhas de mamona em estresse hídrico indicam uma resposta integrada, envolvendo o controle da perda de água e uma mudança regulatória na atividade do PSII, que permite que somente a quantidade de energia excitada que pode ser utilizada no processo fotoquímico seja transportada da antena até o centro de reação do fotossistema. Essa mudança regulatória representa um mecanismo de proteção que evita danos ao aparato fotossintético de *Ricinus communis* em situações de déficit hídrico.

CAPÍTULO III

PADRÃO DIÁRIO DE TROCAS GASOSAS E EFICIÊNCIA NO USO DA ÁGUA EM *Ricinus communis* (MAMONA) SOB DÉFICIT HÍDRICO DO SOLO

3.1. RESUMO

O déficit hídrico afeta a performance vegetal através de efeitos sobre a abertura estomática, o processo fotossintético e o crescimento, sendo que cada um destes processos pode ser afetado diferentemente, dependendo do genótipo da planta e da intensidade do déficit hídrico. As estratégias utilizadas por *Ricinus communis* para tolerar períodos de seca e as possíveis limitações do estresse hídrico ao processo de fotossíntese foram avaliadas em plantas submetidas a diferentes *status* hídrico do solo. O padrão diário de trocas gasosas e o potencial hídrico das folhas foram reduzidos pelo estresse hídrico e foram acompanhados pelo aumento na eficiência no uso da água (EUA) e na concentração de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$). A análise dos parâmetros bioquímicos demonstrou que, sob suave seca, a

limitação estomática é a principal responsável pela redução da fotossíntese, e a eficiência de carboxilação e o transporte de elétrons não são afetados nestas condições. Entretanto, sob condições de severa seca, além da limitação estomática, a fotossíntese é afetada por limitações bioquímicas com reduções em J_{\max} , V_{cmax} e A_{\max} causadas provavelmente pela redução na disponibilidade de ATP para as reações metabólicas. Os resultados demonstram que o padrão diário de trocas gasosas e as limitações ao processo de fotossíntese em *Ricinus communis* variam com a intensidade do estresse hídrico.

3.2. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas globais sugerem um aumento na temperatura média do ar entre 1,8 graus e quatro graus até 2100, com propensão ao aumento de chuvas no inverno e períodos de seca cada vez mais freqüentes no verão (IPCC, 2007). Tais mudanças terão efeitos significativos sob o balanço hídrico e, portanto, sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. O déficit hídrico afeta a performance vegetal através de efeitos sobre a abertura estomática, o processo fotossintético e o crescimento (Chaves, 1991), sendo que cada um destes processos pode ser afetado diferentemente, dependendo do genótipo da planta e da intensidade do déficit hídrico.

O crescimento vegetal é geralmente mais sensível ao déficit hídrico do que a troca gasosa, e reduções no crescimento podem ocorrer em moderado déficit hídrico do solo antes que reduções significativas no conteúdo de água na planta ocorram (Maroco *et al.*, 2000). A assimilação de carbono é afetada por estresses ambientais que reduzem a atividade hídrica, expresso no potencial hídrico da folha (Kramer &

Boyer, 1995). Há muitos avanços na compreensão dos mecanismos pelos quais a fotossíntese responde aos fatores ambientais. Entretanto, há controvérsias sobre a relativa importância de fatores difusivos (Cornic, 2000) e metabólicos (Tezara *et al.*, 1999).

Em geral, o decréscimo na fotossíntese é devido, inicialmente, ao fechamento estomático, que protege a planta contra a excessiva perda de água, mas simultaneamente restringe a disponibilidade de CO₂ no mesofilo (Chaves, 1991; Flexas *et al.*, 2002; Flexas & Medrano, 2002; Chaves *et al.*, 2003). Além de limitações estomáticas, vários trabalhos têm proposto que limitações metabólicas relacionadas à redução da regeneração da RuBP (Gimenez *et al.*, 1992; Gunasekera & Berkowitz, 1993), da atividade da Rubisco (Medrano *et al.*, 1997; Maroco *et al.*, 2002), da produção de ATP (Tezara *et al.*, 1999; Lawlor & Cornic, 2002), da atividade do fotossistema II (PSII) e do transporte de elétrons (Krause, 1988; Long *et al.*, 1994) afetam o processo de fotossíntese.

No caso específico de *Ricinus communis*, considerada uma espécie tolerante à seca, o efeito inibitório sobre a fotossíntese é causado, em condições de baixa umidade do ar, pela menor concentração de CO₂ na folha, devido ao fechamento estomático (Dai *et al.*, 1992). Dentro de um limite de status hídrico, que normalmente ocorre na natureza, a principal função na fotossíntese é desempenhada pela condutância estomática (Cornic, 2000). Nestas condições, a capacidade fotossintética das folhas não é prejudicada. Porém, há algumas sugestões de que o estômato não é o principal regulador da fotossíntese, devido ao estresse ambiental afetar o metabolismo do mesofilo (Lawlor, 1995).

A extensão das limitações estomáticas e metabólicas causadas pelo estresse hídrico ao processo de fotossíntese, associada a variações nas condições ambientais, pode alterar o padrão diário de trocas gasosas. Uma regulação eficiente da fotossíntese, ao longo do dia, reflete a habilidade da planta para manter o balanço interno entre vários processos, enquanto responde às condições ambientais (Geiger & Servaites, 1994). Nesse sentido, o estudo do padrão diário de troca gasosa e relações hídricas fornece uma boa aproximação fisiológica para analisar a eficiência no uso de água pelas plantas (Hsiao, 1993).

No presente trabalho, o comportamento das trocas gasosas foi avaliado em diferentes condições hídricas para analisar as possíveis limitações ao processo de fotossíntese e às estratégias utilizadas por plantas de *Ricinus communis* para tolerar reduções na disponibilidade de água no solo.

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1. Condições de cultivo e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de agosto a novembro de 2006, com plantas de *Ricinus communis* (L.), cultivar BRS 149 Nordestina, adquiridas da Embrapa Algodão (Campina Grande/PB).

As sementes de mamona foram germinadas em câmara de germinação sob temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas luz/escuro. Após a germinação, as plantas foram transferidas para vasos de PVC com volume de 3L, uma planta por vaso, contendo substrato areia:solo comercial (TerraPreta®) (2:1).

Para evitar a evaporação de água do solo, o substrato foi coberto com polietileno expandido. Para evitar a perda de água do solo por evaporação o substrato foi coberto com polietileno expandido. As condições de temperatura e umidade do ar, durante o período experimental, foram registradas com um *data logger* (Pingüim, RHT) instalado na casa de vegetação, na altura média das plantas.

Após um período de aclimação das plantas (53 dias após a transferência para os vasos), foram iniciados os tratamentos que consistiram em plantas hidratadas (controle) e plantas estressadas. As plantas controle receberam irrigação diária para manter a quantidade de água no solo em 90% da capacidade de vaso. O estresse hídrico foi imposto pela suspensão da reposição de água. O acompanhamento dos efeitos do déficit hídrico do solo sobre o padrão diário de trocas gasosas foi iniciado cinco dias após a suspensão da irrigação.

3.3.2. Conteúdo gravimétrico de água no solo

O conteúdo gravimétrico de água no solo foi registrado diariamente através da pesagem dos vasos a fim de repor a quantidade de água transpirada nas plantas hidratadas e acompanhar a redução na disponibilidade de água no solo nas plantas submetidas à suspensão da irrigação. O conteúdo gravimétrico de água no solo foi avaliado conforme descrição no capítulo II.

3.3.3. “Status” hídrico da planta

O grau de déficit hídrico das plantas foi avaliado quinzenalmente através de medidas do potencial hídrico das folhas, no início da manhã, antes do início das

medições do padrão diário de troca gasosa. O potencial hídrico das folhas foi estimado conforme descrição no capítulo II.

3.3.4. Padrão diário de troca gasosa

O padrão diário de trocas gasosas foi avaliado quinzenalmente através de medições da taxa de assimilação de carbono (A) e da taxa de transpiração (E) em 10 folhas por sistema de irrigação, em intervalos de duas horas, a partir das 8:00 às 18:00 horas. Para a realização das medições, foi utilizado um analisador portátil de gases infravermelho (Licor 6400; LiCor Inc., Lincoln, NE, USA). A quantidade de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) recebida pela folha no momento da medição, foi fixada em $1500 \mu\text{mol PAR m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A concentração de CO_2 dentro da câmara de medição foi controlada através da utilização de ampolas de CO_2 e fixada em 400 ppm. A temperatura e a umidade relativa seguiram as condições ambientais da casa de vegetação. A eficiência instantânea no uso da água (EUA) foi calculada a partir da razão entre a taxa fotossintética (A) e a taxa de transpiração (E).

3.3.5. Curvas de resposta A-C_i

Para avaliar as possíveis limitações bioquímicas ao processo fotossintético, curvas de resposta A-C_i foram realizadas aos 14 dias (leve estresse hídrico) e 40 dias (severo estresse hídrico) após a suspensão da irrigação. As curvas A-C_i foram realizadas dentro do laboratório, em quatro plantas por sistema de irrigação (hidratadas e estressadas), utilizando a folha mais jovem completamente expandida. Para a realização das curvas, utilizou-se o mesmo sistema portátil de troca gasosa

das medições de fotossíntese. A temperatura da câmara foi mantida entre 25° e 26° C. O fluxo de fótons fotossinteticamente ativos foi de 1500 $\mu\text{mol PAR m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e a umidade relativa esteve entre 50 e 60%. As curvas A-C_i foram obtidas com medidas de curta duração (aproximadamente 2 minutos para cada ponto), começando na concentração de CO₂ de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e progressivamente reduzindo até 50 $\mu\text{mol mol}^{-1}$; então, a concentração de CO₂ foi progressivamente aumentando até 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Foram calculados os seguintes parâmetros fotossintéticos: V_{cmáx} (velocidade máxima de carboxilação), J_{máx} (taxa máxima de transporte de elétrons), A_{máx} (taxa máxima de assimilação de carbono sob condições de saturação de luz e CO₂) de acordo com o modelo matemático da assimilação de carbono proposto por von Caemmerer & Farquhar (1981) e L_s (limitação estomática) de acordo com o modelo de Farquhar & Sharkey (1982).

3.3.6. Determinação da concentração de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$)

A análise da composição isotópica de carbono é uma medida de longo prazo da eficiência no uso da água pelas plantas. As medições foram realizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA, USP, Piracicaba/SP). Para a determinação da concentração de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), as folhas utilizadas nas determinações do potencial hídrico foram secas a 65°C em estufa de circulação e posteriormente, foram moídas e homogeneizadas. As amostras das folhas moídas foram pesadas em cápsulas de estanho (1,5 mg para amostras vegetais) e encaminhadas ao laboratório de espectrometria de massa. Em método de fluxo contínuo as amostras foram colocadas em um analisador elementar (CHNS, Carlo

Erba) e a seguir carreadas ao espectrômetro obtendo-se o. A concentração isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) foi obtida de acordo com o modelo matemático proposto por Farquhar *et al.* (1989):

$$\delta (\text{‰}) = \frac{(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}})}{R_{\text{padrão}}} * 1000$$

3.3.7. Medidas de crescimento, biomassa, área foliar e conteúdo de clorofila

A taxa de crescimento da parte aérea começou a ser avaliada 43 dias após a emergência, através de medições da altura da parte aérea feitas com uma régua graduada em milímetros. Posteriormente, estas medidas foram avaliadas semanalmente. Com o desmonte do experimento, a parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular para obtenção da massa de matéria seca de cada componente da planta individualmente. A área foliar final das plantas controle e estressadas foi avaliada utilizando o medidor de área foliar (LiCOR 3100). Após, todo o material foi colocado em estufa e mantido a 60°C até massa constante, sendo então pesado. A partir dos valores de massa de matéria seca da parte aérea e raízes, foi calculada a razão entre biomassa total de raízes e parte aérea, visando caracterizar os padrões de alocação entre os órgãos vegetativos de mamona. O teor de clorofila foi determinado conforme descrição no capítulo II.

3.3.8. Delineamento Experimental Completamente Casualizado

As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas através da análise da magnitude das médias e dos desvios padrão da média.

3.4. RESULTADOS

As condições de temperatura e umidade do ar na casa de vegetação podem ser visualizadas na TABELA 1. As temperaturas mais elevadas foram registradas no período do meio-dia às 14 horas e geralmente estiveram associadas a menores umidades relativas do ar. Ao final da tarde, a temperatura retornou aos valores observados no início da manhã.

Com a suspensão da irrigação, o conteúdo gravimétrico de água no solo ($\theta_{g/g-1}$) decresceu gradualmente ao longo do período experimental, alcançando ao final do experimento valores de $0,34 \text{ g/g}^{-1}$. Nas plantas hidratadas observou-se uma variação do conteúdo de água no solo, relacionado à variação das condições do ar e da taxa de transpiração das plantas. Porém, os valores permaneceram próximos a $0,37 \text{ g/g}^{-1}$, correspondendo a 90% da capacidade de vaso (FIGURA 1A).

O potencial hídrico das folhas de mamona no início da manhã foi afetado pela suspensão da irrigação. Ao longo do experimento, o potencial hídrico das plantas estressadas foi progressivamente reduzido, atingindo, ao final do experimento, valores de $-2,1 \text{ MPa}$ nas plantas estressadas, enquanto nas plantas hidratadas manteve-se entre $-0,6$ e $-0,9 \text{ MPa}$ (FIGURA 1B).

O padrão diário de fotossíntese é mostrado na FIGURA 2 para diferentes *status* hídricos. Nas plantas hidratadas, observa-se um aumento da assimilação de carbono (A), atingindo o valor máximo às 15 horas ($34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), e, então, um progressivo declínio é observado durante o período da tarde. Nas plantas em suave e severo estresse hídrico, a taxa de assimilação de carbono foi reduzida em 45% e 59%, respectivamente, comparada às plantas controle, permanecendo praticamente

TABELA 1: Condições ambientais dentro da casa de vegetação durante o período experimental. Variação de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) nos dias de medição (dias após a suspensão da irrigação) do padrão diário de trocas gasosas. Valores são médias de temperatura e umidade relativa do ar, registradas nos intervalos de medição ao longo do dia. Porto Alegre,RS, 2006.

Dias após a suspensão da irrigação	5		14		18	
	T (°C)	UR (%)	T (°C)	UR (%)	T (°C)	UR (%)
8 - 10 h	26,7	46,7	19,9	70,5	33,5	48,4
10 - 12 h	37,4	24,12	26,2	49,5	41,8	31,0
12 - 14 h	37,5	25,5	27,5	43,7	43,9	30,1
14 - 16 h	34,2	32,2	27,2	44,2	42,9	31,8
16 - 18 h	26,6	55,5	22,0	59,8	34,4	52,5

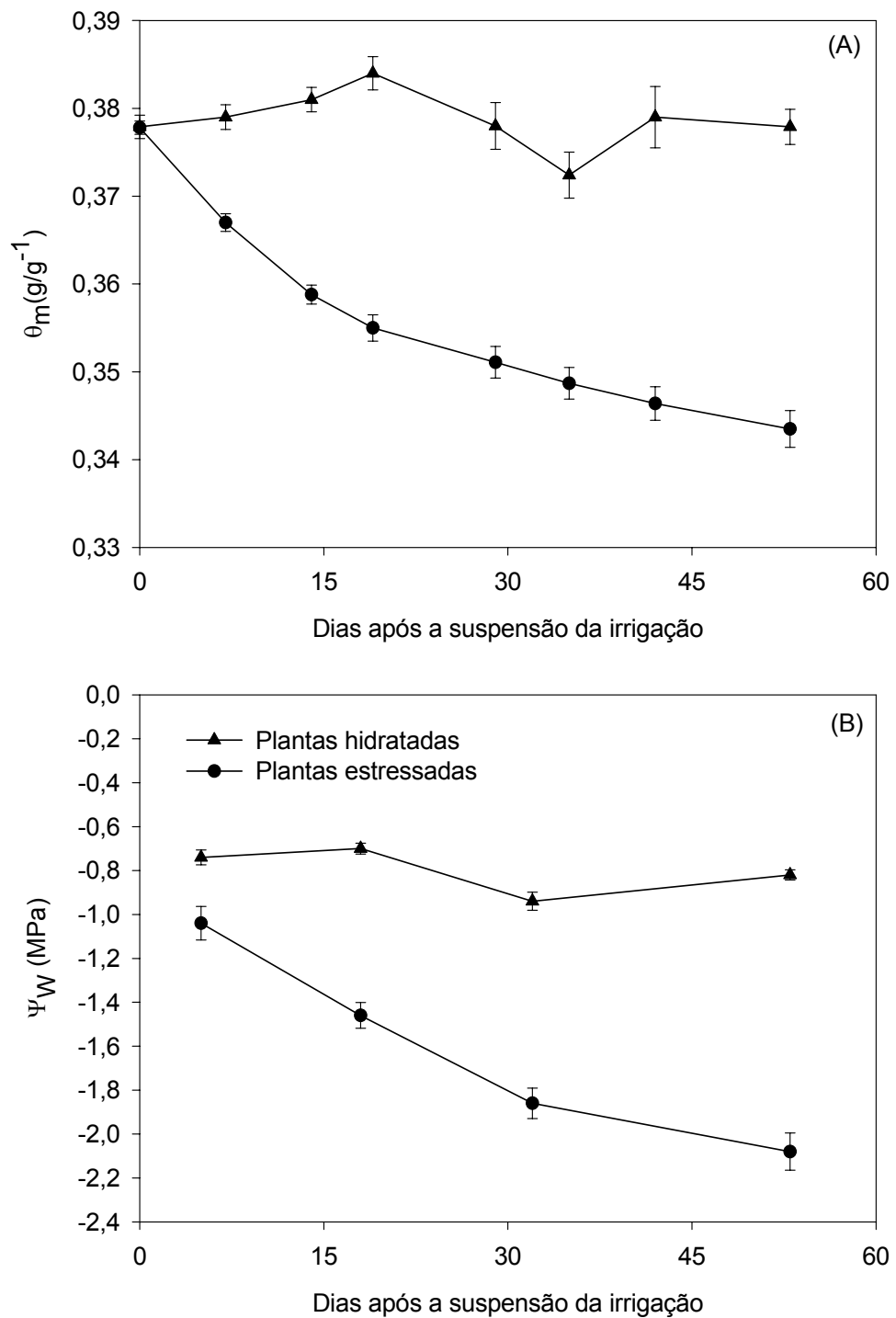


FIGURA 1: Conteúdo gravimétrico de água no solo (A) e potencial hídrico das folhas (B) em diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.

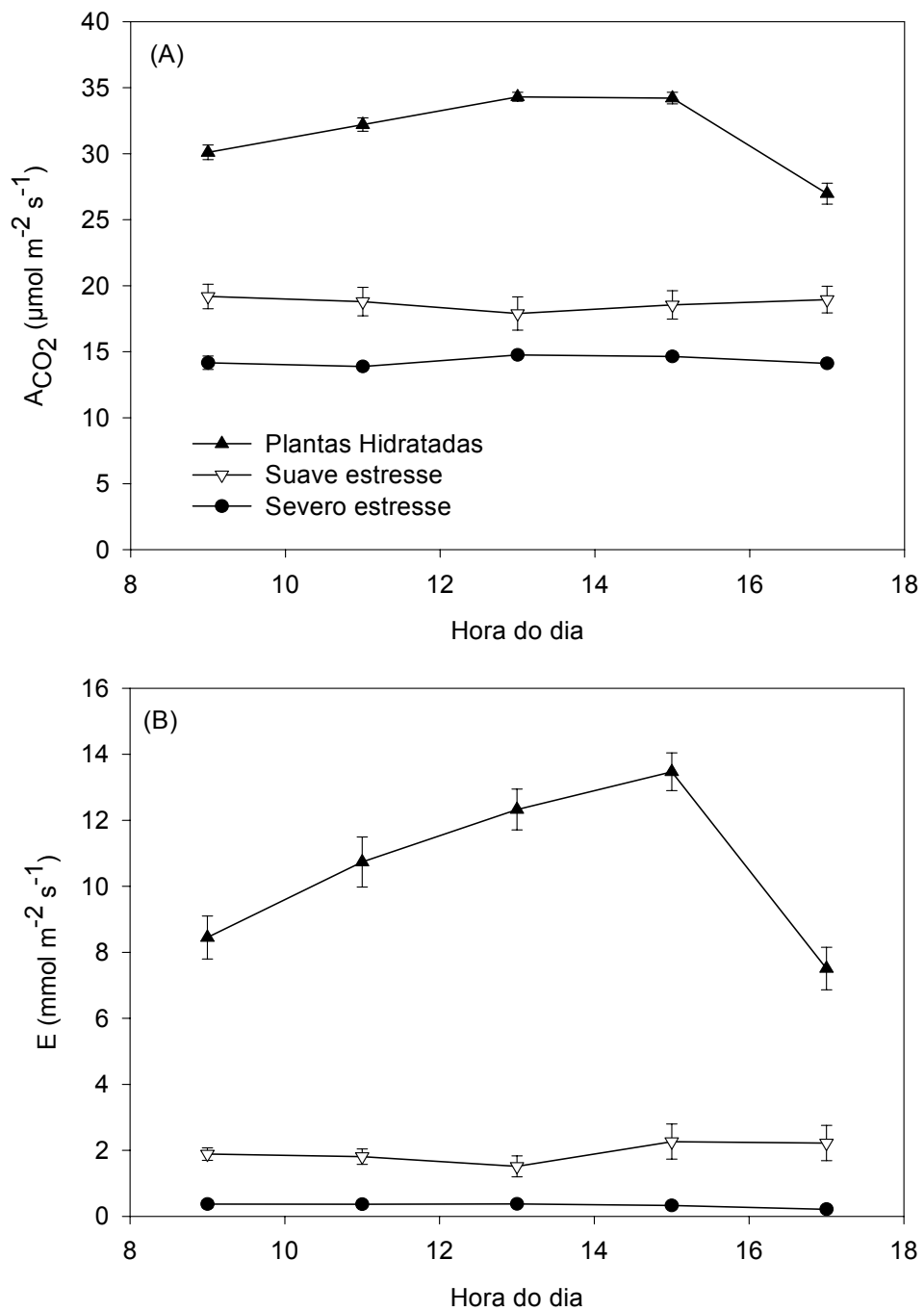


FIGURA 2: Padrão diário de assimilação de carbono (A) e padrão diário de transpiração (B) em plantas de mamona em diferentes *status* hídrico. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.

constante ao longo do dia, com valores máximos de $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nas plantas em suave estresse e $14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no severo estresse.

Com relação à taxa de transpiração (E), as plantas hidratadas exibiram comportamento semelhante ao da assimilação de carbono. A transpiração aumenta durante a manhã e alcançou valor máximo às 15 horas ($13,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e decresce após as 16 horas. As plantas em suave e severo estresse hídrico apresentam valores constantes de E ao longo do dia e reduzidos quando comparado às plantas controle, sendo que nas plantas em severo estresse hídrico os valores de transpiração são próximos à zero (FIGURA 2B).

Com a imposição do déficit hídrico, a concentração de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) aumentou progressivamente nas plantas estressadas (maior $\delta^{13}\text{C}$ menor discriminação contra ^{13}C), do que nas plantas hidratadas, que mostraram menores valores de $\delta^{13}\text{C}$, maior discriminação contra ^{13}C (FIGURA 3). O aumento em $\delta^{13}\text{C}$ foi acompanhado pelo decréscimo mais acentuado na taxa de transpiração do que na taxa de assimilação de carbono, e, assim, as mudanças em $\delta^{13}\text{C}$ devem ter sido causadas predominantemente pelo controle estomático da transpiração, sugerindo um aumento na eficiência no uso da água.

O aumento na concentração isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) nas plantas submetidas à suspensão da irrigação foi acompanhado pela maior eficiência no uso da água, principalmente nas plantas em severo estresse hídrico (FIGURA 4), com dois picos diários na EUA, às 11 horas e às 17 horas, respectivamente. Entretanto, nas plantas hidratadas e em suave estresse, a EUA foi mínima, com um discreto aumento no período do meio-dia nas plantas em suave estresse.

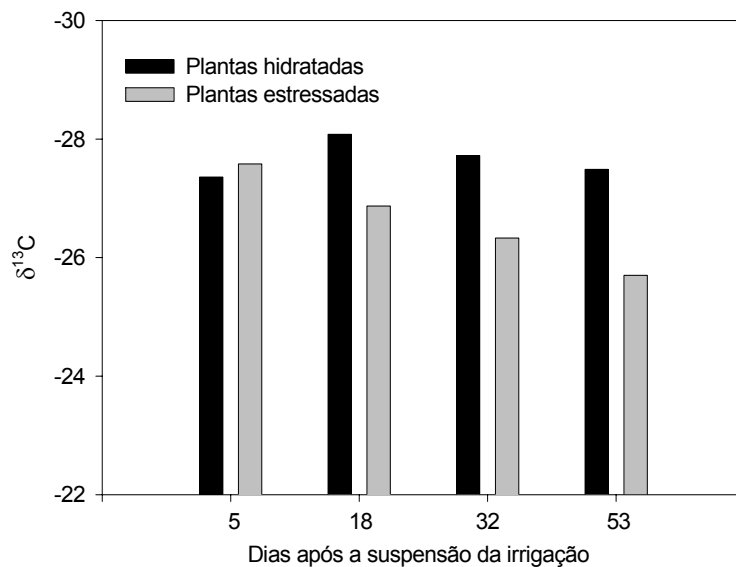


FIGURA 3: Efeitos do estresse hídrico sobre a concentração foliar de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em plantas de mamona. Barras indicam médias de dez plantas por sistema de irrigação. Porto Alegre, RS, 2006.

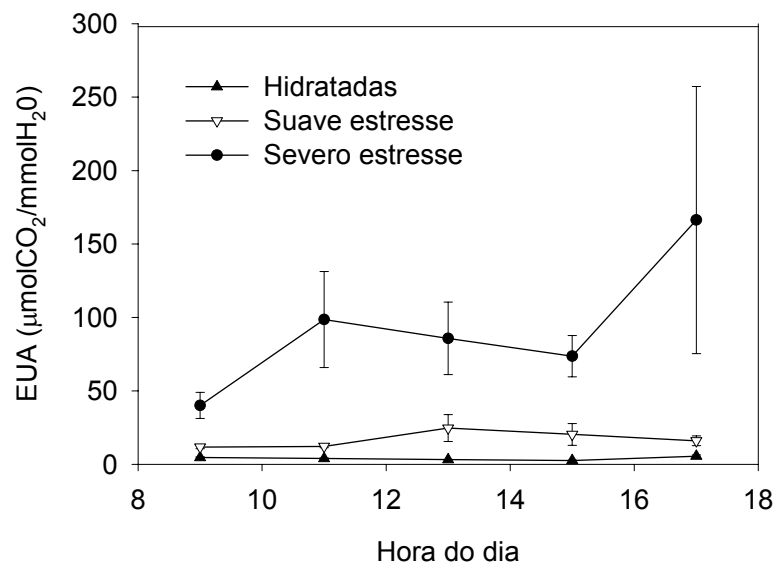


FIGURA 4: Padrão diário de eficiência no uso da água em plantas de mamona em diferentes *status* hídrico. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.

Para verificar as possíveis limitações bioquímicas no processo de fotossíntese, curvas A-C_i foram realizadas em dois períodos distintos de estresse hídrico, em suave seca ($\psi_w = -1,0$ a $-1,5$ MPa) e em severa seca ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Ao analisar a curva de resposta A-C_i (FIGURA 5), observa-se que nas plantas em suave estresse hídrico não ocorre a saturação da Rubisco (dada pela inclinação inicial da curva), relacionada à redução na disponibilidade de CO₂ no sítio ativo da enzima. Nas plantas em severo estresse hídrico, observa-se que o decréscimo na fotossíntese não foi restabelecido por elevadas concentrações de CO₂ que normalmente saturam a fotossíntese.

A análise dos parâmetros bioquímicos demonstrou que a limitação imposta pelo fechamento estomático (FIGURA 6C) foi maior em condições de suave seca (0,53) em relação às plantas em severo estresse hídrico (0,47) e nas plantas hidratadas (0,22). Além disso, V_{cmax} e J_{max} foram levemente superiores nas plantas em suave estresse hídrico comparadas às plantas controle, indicando que a eficiência de carboxilação e o transporte de elétrons não foram afetados nestas condições (FIGURA 6 A e B). Entretanto, nas plantas em severo estresse hídrico, V_{cmax} , J_{max} , e A_{max} foram drasticamente reduzidos, indicando que além de limitações estomáticas, a redução na fotossíntese, sob severa seca, foi acompanhada por limitações bioquímicas (FIGURA 6A, B e D).

O crescimento vegetal é considerado bastante sensível ao estresse hídrico, sendo um dos primeiros processos fisiológicos afetados com a redução na disponibilidade de água. O crescimento das plantas de mamona foi afetado com a suspensão da irrigação, expresso pela redução do comprimento da parte aérea

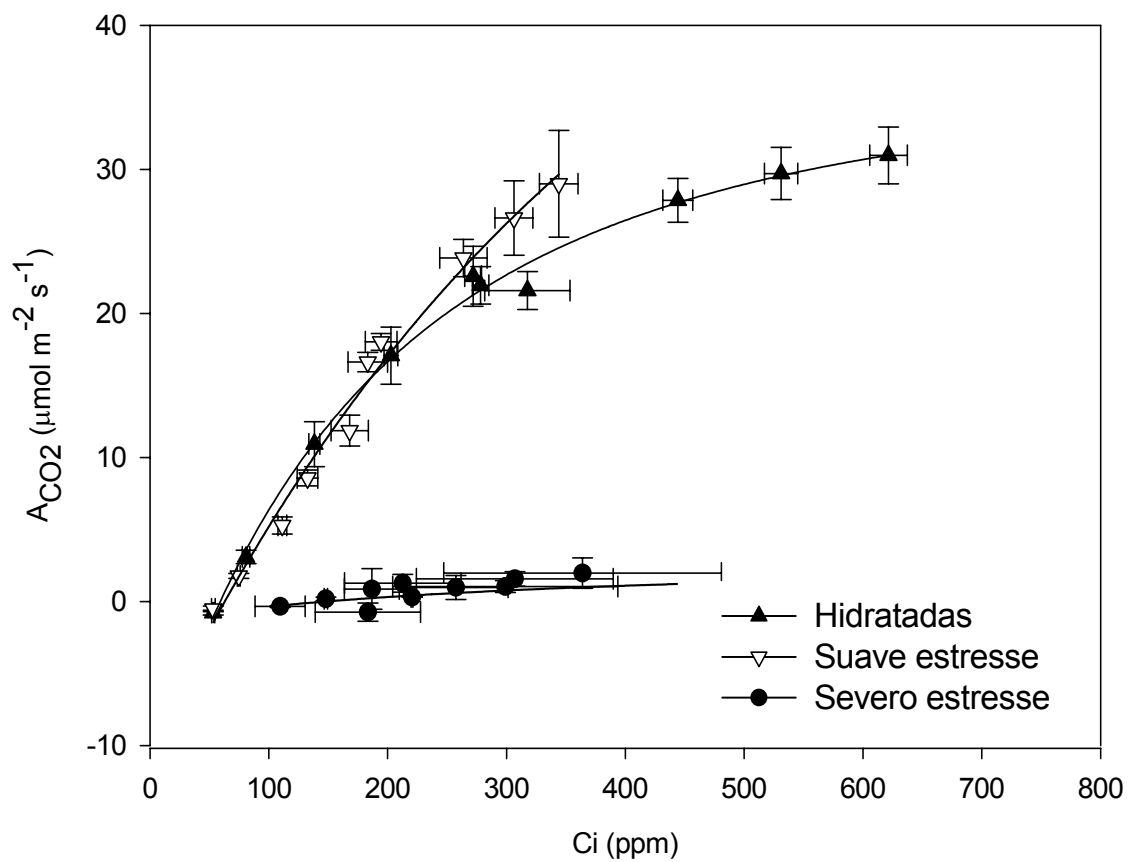


FIGURA 5: Curva de resposta da fotossíntese (A) a concentração interna de CO_2 (C_i). Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ MPa a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ MPa a $-2,1$ MPa). Porto Alegre, RS, 2006.

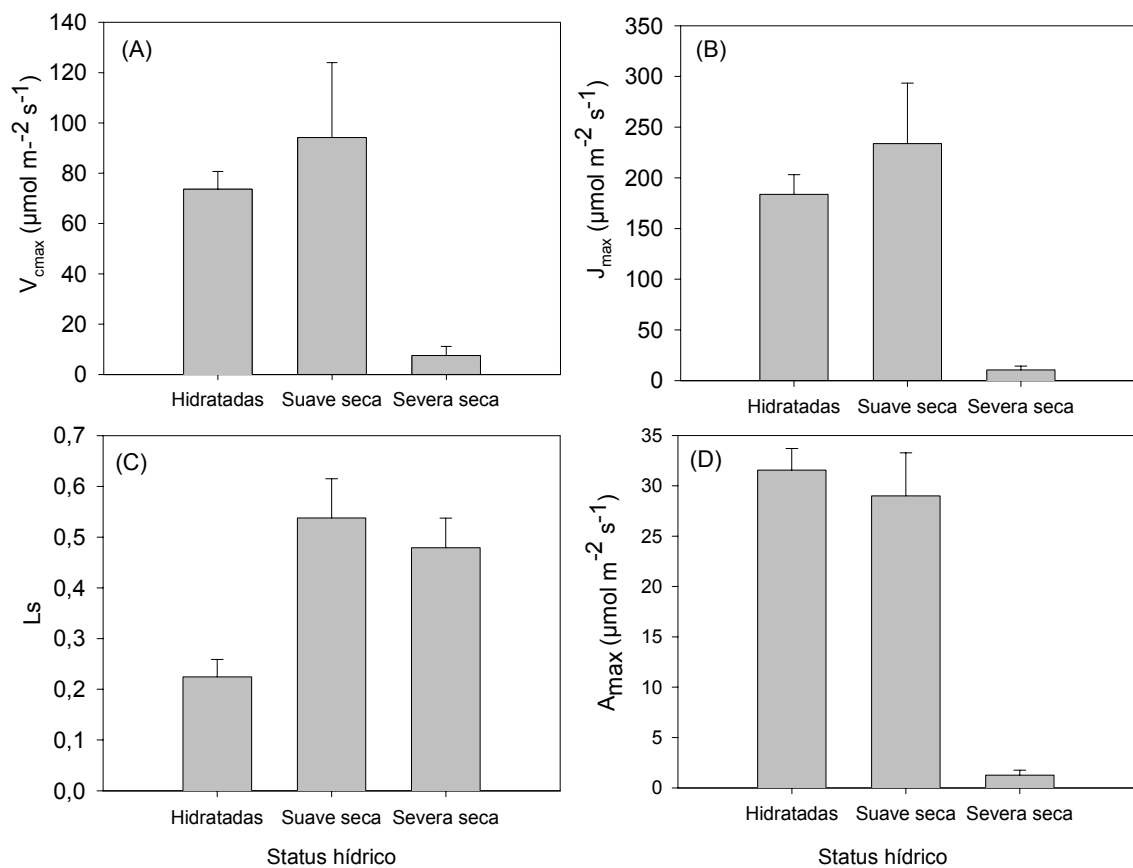


FIGURA 6: Efeitos do estresse hídrico sobre os parâmetros bioquímicos: (A) Velocidade máxima de carboxilação; (B) Taxa de transporte de elétrons; (C) Limitação estomática e (D) Fotossíntese em condições de CO_2 e luz saturante. Plantas hidratadas ($\psi_w = -0,6$ a $-0,9$ MPa), plantas em suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ a $-1,5$ MPa) e plantas em severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ a $-2,1$ MPa). Barras expressam médias \pm erro padrão da média. Porto Alegre, RS, 2006.

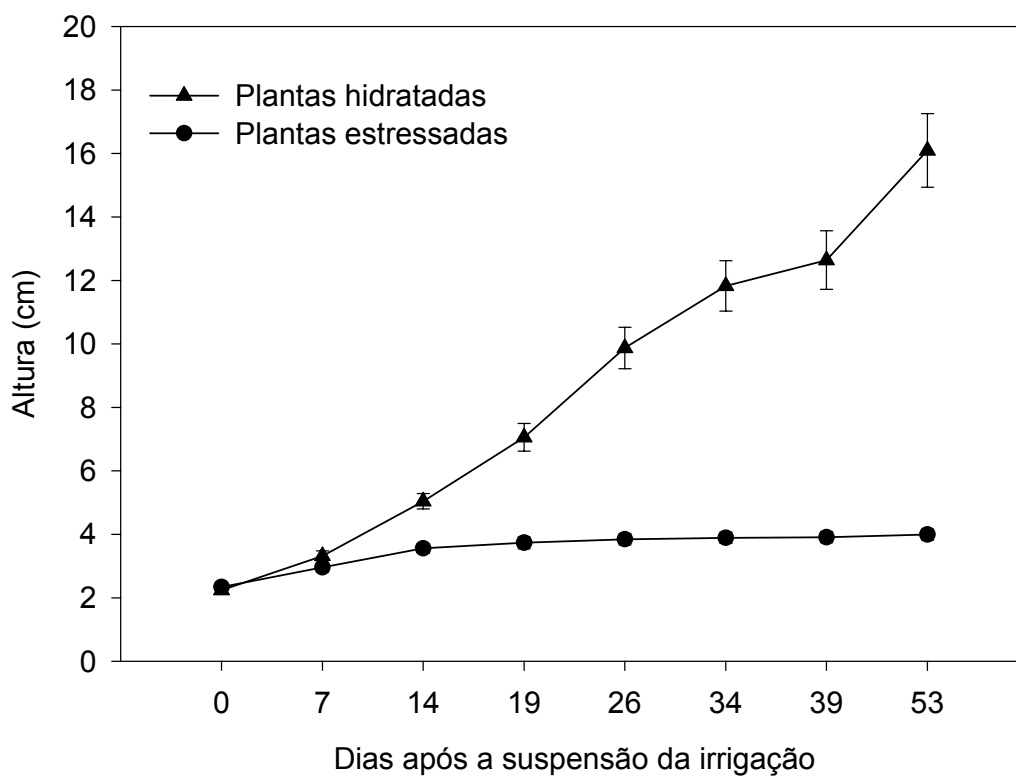


FIGURA 7: Efeitos da suspensão da irrigação sobre a altura da parte aérea de plantas de mamona. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão da média para 20 plantas (hidratadas) e 27 plantas (estressadas). Porto Alegre, RS, 2006.

TABELA 2: Medidas de crescimento, biomassa e teor de pigmentos fotossintetizantes. Razão da biomassa de raiz/biomassa da parte aérea, área foliar total (cm²), total de clorofila (mg/m²) e razão clorofila a/b em plantas de mamona hidratadas e em estresse hídrico. Valores expressos segundo médias \pm erro padrão (n=20 para controle e 27 para tratamento). Porto Alegre, RS, 2006.

	Biomassa Raiz/Parte aérea	Área Foliar Total	Teor de clorofila a + b	Razão clorofila a/b
Hidratadas	1,13 \pm 0,13	768,8 \pm 117,8	462,3 \pm 0,286	3,68
Estressadas	1,2 \pm 0,048	78,59 \pm 4,82	555 \pm 0,292	2,4

(FIGURA 7) e da área foliar total (TABELA 2). Com relação à alocação de biomassa em resposta ao déficit hídrico do solo, não foram observadas diferenças na razão entre a biomassa da raiz e a biomassa da parte aérea entre as plantas irrigadas e estressadas (TABELA 2), devido à limitação imposta pelo tamanho do vaso ao crescimento das raízes das plantas hidratadas.

A quantidade de clorofila por área foliar foi maior nas plantas estressadas do que nas plantas hidratadas. Entretanto, a razão clorofila a/clorofila b foi menor nas plantas estressadas em comparação com as plantas hidratadas (TABELA 2).

3.5. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o padrão diário de trocas gasosas, as relações hídricas e as limitações ao processo de fotossíntese em *Ricinus communis* são fortemente influenciados pela disponibilidade hídrica.

Sob condições bem irrigadas, a transpiração foliar e a assimilação de carbono se mantiveram altas durante a maior parte do dia. Estes resultados indicam que quando a disponibilidade hídrica do solo não é um fator limitante, a mamona tem menor eficiência no uso da água, com altas taxas diárias de transpiração e fotossíntese. Talvez, em condições ótimas, seja mais efetivo maximizar a fotossíntese do que otimizar a economia de água.

As altas taxas de fotossíntese observadas nas plantas de mamona podem ser explicadas, de acordo com Dai *et al* (1992) pelo maior conteúdo de proteína solúvel, clorofila e ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) por área foliar observada nas folhas de mamona em comparação com outras espécies.

O decréscimo observado durante a tarde na taxa fotossintética e na taxa de transpiração das plantas hidratadas está, provavelmente, relacionado ao fechamento dos estômatos e tem sido associado ao controle estomático via ciclo da xantofila nas células-guarda em condições de excessiva radiação solar (Zeiger, 2000), além de indicações de que o ritmo circadiano pode estar envolvido na regulação diurna da abertura estomática, influenciado pela umidade do ar e status hídrico da folha (Franks *et al.*, 1997; Mencuccini *et al.*, 2000).

Entretanto, sob suave e severo estresse hídrico, observam-se mudanças no padrão diário de trocas gasosas. Nestas condições, plantas de mamona mostram uma forte regulação estomática da troca gasosa, com a redução da transpiração e da taxa de assimilação de CO₂. Porém, mesmo com uma redução de aproximadamente 50% em relação às plantas controle, os valores de fotossíntese se mantiveram positivos e constantes ao longo do dia. A manutenção de valores constantes de troca gasosa ao longo do dia foi também observada em plantas estressadas de *Carica papaya* (L.) por Marler & Mickelbart (1998), e parece estar associada um ajuste osmótico (Turner, 1997), que é essencial para a manutenção da atividade fisiológica sob condições de estresse hídrico.

O padrão diário de trocas gasosas, sob condições naturais de déficit hídrico geralmente apresenta maior influência das condições ambientais, com valores máximos de fotossíntese e transpiração sendo observados no início da manhã e um acentuado decréscimo ocorrendo ao meio-dia, período de maior demanda evaporativa (Romero & Botía, 2006). Os valores constantes de troca gasosa ao longo do dia observados no experimento podem estar relacionados à menor variação climática (temperatura, irradiância e umidade), que ocorre em casa de vegetação, e

que geralmente é menos severa do que em condições naturais. Porém, o comportamento das plantas em resposta ao estresse hídrico que é observado em casa de vegetação fornece informações sobre a estratégia da espécie para sobreviver em seu ambiente natural.

A eficiência no uso da água é uma importante estratégia para a tolerância à seca (Chaves, 1991) e a análise das mudanças na discriminação isotópica de carbono é um interessante indicador de longo prazo de mudanças na eficiência no uso da água e da sensibilidade das plantas ao estresse hídrico. A análise da discriminação isotópica de carbono indica que o tratamento de déficit hídrico promoveu um aumento na eficiência no uso da água comparada às plantas irrigadas, expressa, em curto prazo, pelo aumento na razão A/E e, em longo prazo, pelo aumento na concentração de ^{13}C nas folhas. A redução em Δ refletiu a manutenção ao longo do dia da taxa fotossintética associada ao decréscimo na taxa de transpiração, controlando assim a excessiva perda de água e otimizando a razão da perda de água por CO_2 assimilado (Farquhar & Sharkey, 1982).

A relativa importância das limitações estomáticas *versus* metabólicas ao processo de fotossíntese foi analisada através de curvas de resposta da fotossíntese (A) à concentração interna de CO_2 (C_i). A validade da concentração interna de CO_2 calculada a partir das curvas tem sido questionada (Lawlor & Cornic, 2002) devido a dois principais problemas que devem ser considerados em situações de estresse hídrico: o heterogêneo fechamento estomático e o aumento da transpiração cuticular (Boyer *et al.*, 1997; Buckley *et al.*, 1997). Além disso, a realização das medições pode se tornar extremamente difícil quando baixos valores de fotossíntese são

observados em níveis reduzidos de condutância estomática e em altas concentrações de CO₂ (Lawlor, 2002). No experimento, assumiu-se que um uniforme fechamento dos estômatos ocorre nas plantas de mamona em resposta ao déficit hídrico. Além disso, os valores extremamente reduzidos de condutância estomática e fotossíntese tornaram a medição mais difícil, e com isso, elevados valores de erro padrão da média são observados nas curvas de resposta A-C_i de plantas em severo estresse hídrico.

A relativa importância das limitações estomáticas *versus* metabólicas e a influência da intensidade do estresse hídrico são matéria de debate em muitos trabalhos (Cornic, 2000; Flexas & Medrano, 2002; Lawlor & Cornic, 2002). A redução da fotossíntese, em condições de suave estresse hídrico, é causada principalmente pela restrição à difusão de CO₂, devido ao fechamento estomático (Chaves, 1991) ou ainda pode ser causada pelo decréscimo na condutância do mesófilo (Tourneaux & Peltier, 1995; Flexas *et al.*, 2002).

A análise da limitação estomática e dos parâmetros bioquímicos em plantas de mamona sob condições de suave estresse hídrico indica que a redução da fotossíntese foi causada pelo aumento na resistência à difusão de CO₂, devido ao fechamento estomático, e que a atividade da Rubisco, a eficiência de carboxilação e o transporte de elétrons não foram afetadas pelo moderado estresse hídrico, conforme observado em trabalhos anteriores (Sharkey & Seeman, 1989; Chaves, 1991). Nesse sentido, a redução da fotossíntese é causada pelo declínio na concentração intercelular de CO₂ devido à limitação estomática, que parece induzir um ajuste (ou uma redução na atividade) da maquinaria fotossintética para consumir o carbono disponível.

Entretanto, sob severo estresse hídrico, a análise dos resultados indica que os estômatos e a reduzida capacidade bioquímica co-limitam o processo de fotossíntese. A fotossíntese depende do suprimento de CO₂, da atividade da Rubisco, da síntese de RuBP e do transporte de elétrons. Porém, o declínio observado em A_{max} com o severo estresse hídrico, em uma concentração de CO₂ que normalmente satura a fotossíntese, sugere que a regeneração da RuBP, mais do que o suprimento de CO₂ ou a atividade da Rubisco limitam o processo de fotossíntese (Lawlor, 2002).

De fato, a atividade da Rubisco é considerada altamente resistente ao estresse hídrico (Gimenez *et al.*, 1992; Tezara *et al.*, 1999) ou é pouco afetada com o severo estresse hídrico (Flexas & Medrano, 2002). Porém, há evidências de que a atividade da Rubisco ativas decresce em baixa disponibilidade hídrica, acompanhando o decréscimo da concentração de ATP (Parry *et al.*, 2002). O decréscimo no conteúdo de RuBP em baixa disponibilidade hídrica é significativo (Gimenez *et al.*, 1992; Gunasekera & Berkowitz, 1993; Tezara *et al.*, 1999). Além disso, reduções na regeneração de RuBP são observadas em condições de severo, mas não de suave estresse hídrico (Sharkey & Seeman, 1988, Escalona *et al.*, 1999; Maroco *et al.*, 2002), como resultado do inadequado suprimento de ATP devido à desidratação do cloroplasto (Lawlor & Cornic, 2002).

Assim, o decréscimo observado nos parâmetros bioquímicos sugere que a redução na fotossíntese das plantas em severo estresse hídrico foi causada pelo decréscimo na disponibilidade de ATP e/ou NADPH (Sharkey & Seeman, 1989; Robinson & Partis, 1988; Parry *et al.*, 2002; Lawlor, 2002). O decréscimo na produção de ATP em baixa disponibilidade hídrica foi observado em alguns estudos,

porém o conteúdo de NADPH permanece relativamente constante (Tezara *et al.*, 1999; Lawlor, 2002).

A redução da concentração de ATP pode estar relacionada ao decréscimo na fotofosforilação (Keck & Boyer, 1974) e na atividade do *coupling factor* (Meyer & Kouchkovsky, 1992), sugerindo que a quantidade de enzima ou a redução do processo fotoquímico limitam a síntese de ATP. Entretanto, Tezara *et al.* (1999) demonstrou que a menor concentração de ATP se deve ao decréscimo da atividade da ATP sintase, causando a redução na regeneração de RuBP e, com isso, o declínio na fotossíntese, comprovando que a síntese de ATP é sensível à desidratação celular.

Nesse sentido, o processo fotossintético de plantas de mamona, em condições de severo estresse hídrico, foi severamente reduzido pela menor disponibilidade de CO₂ causada pela limitação estomática e, principalmente, por limitações metabólicas, causadas pela redução na regeneração da RuBP e da taxa de transporte de elétrons devido ao baixo conteúdo de ATP (Tezara *et al.*, 1999; Lawlor, 2002). Além disso, reduções em J_{max} e A_{max} podem ser causadas pelo decréscimo da condutância do mesófilo ao CO₂ (Flexas *et al.*, 2002; Centritto *et al.*, 2003; Ethier & Livingston, 2004).

Os efeitos do déficit hídrico sobre o processo fotossintético foram dependentes da intensidade do estresse que as plantas foram submetidas. A baixa disponibilidade de CO₂ foi responsável pela redução na fotossíntese durante a fase inicial do estresse hídrico, sob suave seca. Porém, sob condições de seca severa, o decréscimo na fotossíntese foi causado por efeitos no metabolismo do mesófilo. As

limitações no metabolismo foram, provavelmente, causadas pelo decréscimo na síntese de ribulose 1,5 bisfosfato e na concentração de ATP.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSÕES GERAIS

Sob condições de suave estresse hídrico ($\psi_w = -1,0$ a $-1,5$ MPa), as reduções da condutância estomática e da transpiração evitam uma excessiva perda de água e indicam um eficiente controle da perda de água em plantas de mamona (Capítulo 2). Nestas condições, a redução na assimilação de carbono é causada pela limitação estomática que reduz a disponibilidade de CO_2 no sítio ativo da Rubisco (Capítulo 3).

Com a redução na disponibilidade de CO_2 , a atividade do PSII é regulada através da redução da absorção de energia na antena do PSII e redução dos processos fotoquímicos da fotossíntese para consumir o substrato disponível. Com a redução da absorção de energia pelo PSII, observa-se o aumento da dissipação da energia excitada via mecanismos protetores que evitam danos ao aparato fotossintético (Capítulo 2).

Porém, em condições de severo estresse hídrico ($\psi_w = -1,6$ a $-2,1$ MPa), observadas apenas na segunda fase experimental, a redução na assimilação de carbono é causada pela sobreposição de limitações estomáticas e metabólicas. Nestas condições, devido ao fechamento estomático observa-se uma redução da taxa de transpiração, redução nos valores de discriminação isotópica de carbono (Δ) nas folhas e com isso, o aumento na eficiência no uso de água nas plantas de mamona. As limitações aos processos bioquímicos da fotossíntese foram causadas pela redução na condutância do mesófilo, na taxa de regeneração da ribulose 1,5 bisfosfato (RuBP) e da taxa de transporte de elétrons (Capítulo 3).

A partir dos resultados alcançados neste trabalho pode-se afirmar que a tolerância à seca na mamona está relacionada a um eficiente controle da perda de água pelo fechamento dos estômatos em resposta a redução na disponibilidade de água no solo. Além disso, a manutenção da capacidade fotossintética em condições de déficit hídrico do solo é uma importante característica para a manutenção do crescimento e da produtividade nesta espécie.

Futuros estudos devem incluir experimentos em condições naturais para analisar as respostas fisiológicas de plantas de mamona à sobreposição de condições ambientais estressantes (estresse hídrico, altas temperaturas e altas irradiancias) que ocorrem em maior intensidade no campo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉASSON, L.E.; VASS, I.; STYRING, S. Ca^{2+} depletion modifies the electron on both donor and acceptor side in Photosystem 2 from spinach. **Biochimica et Biophysica Acta**, Berlin, v.1230, p.155-164, 1995.

ANGELOPOULOS, K.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europea* L.) during water stress and rewatering. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.47, p.1093-1100, 1996.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, p.601-639, 1999.

BILGER, W.; SCHREIBER, U.; LANGE, O. Determination of leaf heat resistance: comparative investigation of chlorophyll fluorescence changes and tissue necrosis method. **Oecologia**, Berlin, v.63, p. 256-262, 1984.

BJÖRKMAN, O.; POWLES, S.B. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. **Planta**, Berlin, v.161, p.490-504, 1984.

BLUM, A.; SINMENA, B.; MAYER, J.; GOLAN, G.; SHPILER, L. Stem reserve mobilization supports wheat-grain filling under heat stress. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.21, p.771-781, 1994.

BOYER, J.S.; CHIN-WONG, S.; FARQUHAR, G.D. CO_2 and water vapour exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials. **Plant Physiology**, Rockville, v.114, p.185-191, 1997.

BUCKLEY, T.N.; FARQUHAR, G.D.; MOTT, K.A. Qualitative effects of patchy stomatal conductance distribution features on gas-exchange calculations. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.20, p.867-880, 1997.

CENTRITTO, M.; LORETO, F.; CHARTZOULAKIS, K.. The use of low (CO₂) to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. **Plant, Cell and Environmental**, Oxford, v.26, p.585-594, 2003.

CHAPIN III, F.S. Effects of multiple environment stresses on nutrient availability and use. In: MOONEY, H.A.; WINNER, W.E.; PELL, E.J. (Eds.). **Responses of plants to multiple stresses**. New York: Academic Press, 1991. p.67-88.

CHAPIN III, F.S.; BLOOM, A.J.; FIELD, C.B.; WARING, R.H. Plant responses to multiple environmental factors. Physiological ecology provides tools for studying how interacting environmental resources control plant growth. **BioScience**, Washington, v.37, p.49- 57, 1987.

CHAVES, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.42, p.1-16, 1991.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.30, p.239-264, 2003.

CHAVES, M.M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.55, p.2365-2384, 2004.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSORIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How Plants Cope with Water Stress in the Field. Photosynthesis and Growth. **Annals of Botany**, London, v.89, p.907-916, 2002.

CORNIC, G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. **Trends in Plant Science**, London, v.5, p.187-188, 2000.

CORNIC, G.; BRIANTAIS, J.M. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. **Planta**, Berlin, v.183, p.178-184, 1991.

CORNIC, G.; FRESNEAU, C. Photosynthetic Carbon Reduction and Carbon Oxidation Cycles are the Main Electron Sinks for Photosystem II Activity During a Mild Drought. **Annals of Botany**, London, v.89, p. 887-894, 2002.

CORNIC, G.; le GOUALLEC, J.L.; BRIANTAIS, J.M.; HODGES, M. Effect of a high light treatment during a drought stress on photosynthetic capacities of two C3 plants: *Phaseolus vulgaris* and *Elatostema repens*. **Planta**, Berlin, v.177, p. 84-90, 1989.

CORNIC, G.; MASSACI, A. Leaf photosynthesis under drought stress. In: **Photosynthesis and the environment**. New York: Kluwer Academic Publishers, 1996. p.347-366.

DAI, Z.; EDWARDS, G.E.; KU, M.S.B. Control of photosynthesis and stomatal conductance in *Ricinus communis* L. (castor bean) by leaf to air vapour pressure deficit. **Plant Physiology**, Rockville, v.99, p.1426-1434, 1992.

DAVIES, W.J.; KUDOYAROVA, G.; HARTUNG, W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v.24, p.285–295, 2005.

DAVIES, W.J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.55-76, 1991.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W III. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. **Planta**, Berlin, v.198, p.460-470, 1996.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. II, LOGAN, B.A.; VERHOEVEN, A.S. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible PS II efficiency in plants acclimated to light stress. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.22, p.249-260, 1995.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. III; BAKER, D.H.; LOGAN, B.A.; VERHOEVEN, A.S.; BOWLING, D.R. Using chlorophyll fluorescence to assess the allocation of absorbed light to thermal dissipation of excess excitation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.98, p.253-264, 1996.

DODD, I.C. Root-to-shoot signalling: assessing the roles of 'up' in the up and down world of long-distance signalling in planta. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 274, p.251–270, 2005.

EHLERINGER, J.R.; COOPER, T.A. On the role of orientation in reducing photoinhibitory damage in photosynthetic-twig desert shrubs. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.15, p.301-306, 1992.

EPRON, D.; DREYER, E.; BREDA, N. Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.15, p.809-820, 1992.

ESCALONA, J.M.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.26, p.421-433, 1999.

ETHIER, G.J.; LIVINGSTON, N.J. On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-berry leaf photosynthesis model. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.149, p.78-90, 2004.

EZE, J.M.O.; MAYAK, S.; THOMPSON, J.E.; DUMBROFF, E.B. Senescence in cut carnation flowers: temporal and physiological relationships among water status, ethylene, abscisic acid and membrane permeability. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v. 68, p. 323–328, 1986

FAN, S.; BLAKE, T.J.; BLUMWALD, E. The relative contribution of elastic and osmotic adjustments to turgor maintenance of woody species. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v.90, p.408–413, 1994.

FARQUHAR, G.D.; EHKERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon Discrimination and Photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.40, p.503-537, 1989.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.33, p. 317-345, 1982.

FINDLAY, G.P. Membranes and the electrophysiology of turgor regulation. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.28, p.617–634, 2001.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; ESCALONA, J.M.; SAMPOL, B.; MEDRANO, H. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.29, p.461-471, 2002.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 127, p. 343 – 352, 2006.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T.D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 6, p. 269 – 279, 2004.

FLEXAS, J.; ESCALONA, J.M. ; MEDRANO, H. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulations in grapevines. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, p. 39 – 48, 1999.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, London, v.89, p.183-189, 2002.

FRANKS, P.J.; COWAN, I.R.; FARQUHAR, G.D. The apparent feed-forward response of stomata to air vapour pressure deficit: information revealed by different experimental procedures with two rainforest trees. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 20, p. 142 – 145, 1997.

GEIGER, D.R.; SERVAITES, J. Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C3 plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 86, p.159 – 167, 1994.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimical et Biophysica Acta**, Berlin, v. 990, p. 87 – 92, 1989.

GIMÉNEZ, C.; MITCHELL, V.J.; LAWLOR, D.W. Regulation of photosynthesis rate of two hybrids under water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p. 516 – 524, 1992.

GOLDING, A.J.; JOHNSON, G. N. Down-regulation of linear and activation of cyclic electron transport during drought. **Planta**, Berlin, v. 218, p. 107 – 114, 2003.

GOWING, D.J.G., DAVIES, W.J., TREJO, C.L.; JONES, H.G. Xylem transported chemical signals and the regulation of plant growth and physiology. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, London, v.341, p. 41-47,1993.

GUNASEKERA, D.; BERKOWITZ, G.A. 1993. Use transgenic plants with Rubisco antisense to evaluate the rate limitador of photosynthesis under water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, p. 629 - 635.

HALE, M. G.; ORCUTT, D. M. **The physiology of plants under stress**. New York: John Wiley, 1987. 206p.

HANBA, Y.T.; SHIBASAKA, M.; HAYASHI, Y.; HAYAKAWA, T.; KASAMO, K.; TERASHIMA, I.; KATSUHARA, M. Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2; 1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.45, p.521-529, 2004.

HECKENBERGER, U.; ROGGATZ, U.; SCHURR, U. Effect of drought stress on the cytological status in *Ricinus communis*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.49, p.181-189, 1998.

HEIDECKER M.; WEGNER L.H.; BINDER K.A.; ZIMMERMANN U. Turgor pressure changes trigger characteristics changes in the electrical conductance of the tonoplast and the plasmalemma of the marine alga *Valonia utricularis*. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.26, p.1035–1051, 2003.

HSIAO, T.C. Growth and productivity of crops in relation to water status. **Acta Horticultura**, Leuven, v.335, p.137-147, 1993.

IPCC. 2007. **Climate change 2007: The Physical Science Basis** Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Disponível em: www.ipcc.ch Acesso em: 22 fev. 2007.

JACKSON, R.B.; SPERRY, J.S.; DAWSON, T.E. Root water uptake and transport: using physiological processes in global prediction. **Trends in Plant Science**, London, v.5, p.482-488, 2000.

JOHNSON, G. N.; RUTHERFORD, A.W.; KRIEGER, A. A change in the midpoint potential of quinone Q_A in Photosystem II associated with photoactivation of oxygen evolutions. **Biochimica et Biophysica Acta**, Berlin, v.1229, p. 202-207, 1995.

JONES, H.G.; SUTHERLAND, R.A. Stomatal control of xylem embolism. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.14, p.607- 612, 1991.

KATO, M.C.; HIKOSAKA, K.; HIROSE, T. Photoinactivation and recovery of Photosystem II in *Chenopodium album* leaves grown at different levels of irradiance and nitrogen-availability. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 29, p.787-795, 2002.

KECK, R.W.; BOYER, J.S. Chloroplast response to low leaf water potentials. Differing inhibition of electron transport and photophosphorylation. **Plant Physiology**, Rockville, v.53, p. 474-479, 1974.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. **Growth control in woody plants**. San Diego: Academic Press, 1997. 641p.

KRAMER, P.J.; BOYER, J.S. **Water Relations of Plants and Soils**. San Diego: Academic Press, 1995. 495p.

KRAUSE, G.H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.74, p.566-574, 1988.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. **Annual Review Plant Physiological and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.313-349, 1991.

KRIEGER, A.; WEIS, E. Energy-dependent quenching of chlorophyll-a-fluorescence: The involvement of photon-calcium exchange at photosystem 2. **Photosynthetica**, Prague, v.27, p.89-98, 1992.

KRIEGER, A.; WEIS, E. The role of calcium in the pH-dependent of Photosystem II. **Photosynthesis Research**, Heidelberg, v.37, p.117-130, 1993.

LARCHER, W. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. **Plant Biosystems**, Bologna, v.134, p.279-295, 2000.

LAWLOR, D.W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, London, v.89, p.871-885, 2002.

LAWLOR, D.W. Photosynthesis, productivity and environment. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.46, p.1449-1461, 1995a.

LAWLOR, D.W. The effects of water deficit on photosynthesis. In: **Environmental and Plant Metabolism: flexibility and acclimation**. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1995b. p.129-160.

LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.25, p.275-294, 2002.

LEVITT, J. Recovery of turgor by wilted, excised cabbage leaves in the absence of water uptake. **Plant Physiology**, Rockville, v. 82, p.147-153, 1986.

LEVITT, J. **Responses of plant to environment stress**. New York: Academic Press, 1972. 697p.

LONG, S.P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P.G. Photoinhibition of Photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.45, p.633-662, 1994.

LU, C.; ZHANG, J. Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.25, p.883-892, 1998.

LUDLOW, M.M. Strategies of responses to water stress. In: **Structural and functional responses to environmental stresses**. The Hague: SPB Academic, 1989. p.269-281.

MARLER, T.E.; MICKELBART, M.V. Drought, Leaf Gas Exchange, and Chlorophyll Fluorescence of Field-grown Papaya. **Journal of American Society of Horticultural Science**, New York, v.123, p.714-718, 1998.

MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S.; CHAVES, M.M. Stomatal responses to leaf-to-air vapour pressure deficit in Sahelian species. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.24, p.381-387, 1997.

MAROCO, J.P.; RODRIGUES, M.L.; LOPES, C.; CHAVES, M.M. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modeling approaches. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.29, p.1-9, 2002.

MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S.; CHAVES, M.M. Growth, photosynthesis and water-use efficiency of two C₃ Sahelian grasses subjected to water deficits. **Journal of Arid Environments**, London, v.45, p.119-137, 2000.

MARSHALL, J.G.; DUMBROFF, E.B. Turgor Regulation via Cell Wall Adjustment in White Spruce. **Plant Physiology**, Rockville, v.119, p. 313–319, 1999.

MCDONALD, A.J.S.; DAVIES, W.J. Keeping in touch: responses of the whole plant to deficit in water and nitrogen supply. **Advances in Botanical Research**, London, v.22, p. 229-300, 1996.

MEDRANO, H.; PARRY, M.A.; SOCIAS, X.; LAWLOR, D.W. Long-term water stress inactives Rubisco in subterranean clover. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.131, p. 491-501, 1997.

MENCUCCINI, M.; MAMBELLI, S.; COMSTOCK, J. Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a function of time of day. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.23, p.1109-1118, 2000.

MEYER, S.; HUNG, SPN; TRÉMOLIERES, A.; DE KOUCHKOVSKY, Y. Energy coupling, membrane lipids and structure of thylakoids of lupin plants submitted to water stress. **Photosynthesis Research**, Heidelberg, v.32, p.95-107, 1992.

MITTER, R.; MERQUIOL, E.; HALLAK-HERR, E.; RACHMILEVITCH, S; KAPLAN, A.; COHEN, M. Living under a “dormant” canopy a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetam*. **The Plant Journal**, Roosevelt, v.25, p.407- 416, 2001.

MORGAN, J.M. Osmoregulation and water stress in higher plant. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.35, p.299-319, 1984.

NAVES-BARBIERO, C.C.; FRANCO, A.C.; BUCCI, S.J.; GOLDSTEIN, G. Fluxo de seiva e condutância estomática de duas espécies lenhosas sempre-verdes no campo sujo e cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.12, p.119-134, 2000.

NIKLAS, K. J. **Plant biomechanics. An engineering approaches to plant form and function**. Chicago: The University of Chicago Press, 1992. 607p.

OREN, R.; SHERIFF, D.W. Water and nutrient acquisition by roots and canopies. In: SMITH, K.; HINCKLEY, T.M. (Eds). **Resource physiology of conifers. Acquisition, allocation and utilization**. New York: Academic Press, 1995. p. 39-74.

PARRY, M.A.J.; ANDROLOJC, J.P. KHAN, S.; LEA, P.J.; KEYS, A.J. Rubisco activity: effects of drought stress. **Annals of Botany**, London, v.89, p.833-899, 2002.

PEREIRA, J.P.; CHAVES, M.M. Plant water deficits in Mediterranean ecosystems. In: SMITH, J.A.C.; GRIFFITHS, H. (Eds). **Plant responses to water deficits from cell to community**. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd, 1993. p.237-251.

POSPÍSIL, P. Mechanisms of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in higher plants. **Photosynthetica**, Prague, v.34, p.343-355, 1997.

PRAXEDES, S.C.; DAMATTA, F.M.; LOUREIRO, M.E.; FERRÃO, M.A.G.; CORDEIRO, A.T. Effects of long-term soil drought photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v.56, p.263-273, 2006.

ROBINSON, S.P.; PORTIS, A.R. Involvement of stromal ATP in the light activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in intact isolate chloroplasts. **Plant Physiology**, Rockville, v.86, p.293-298, 1988.

ROMERO, P.; BOTÍA, P. Daily and seasonal patterns of leaf water relations and gas exchange of regulated deficit-irrigated almond trees under semiarid conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v.56, p.158-173, 2006.

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**, Heidelberg, v.56, p.57-66, 1998.

SAITO, T.; TERASHIMA, I. Reversible decreases in the bulk elastic modulus of mature leaves of deciduous *Quercus* species subjected to two drought treatments. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 27, p. 863–875, 2004.

SCHULZE, E.D. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.37, p. 247-274, 1986.

SCHULZE, E.D. Plant response to drought. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.13, p.127-141, 1986.

SCHURR, U. Growth physiology: approaches to a spatially and temporally varying problem. **Progress in Botany**, Berlin, v.3, p.355-373, 1998.

SCHURR, U.; HECKENBERGER, U.; HERDEL, K.; WALTER, A.; FEIL, R. Leaf development in *Ricinus communis* during drought stress: dynamics of growth processes of cellular structure and of sink-source transition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.51, p.1515-1529, 2000.

SHANGGUAN, Z., SHAO, M.; DYCKMANS, J. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.156, p.46-51, 2000.

SHARKEY, T.D. Water stress effects on photosynthesis. **Photosynthetica**, Prague, v.24, p.651, 1990.

SHARKEY, T.D.; BADGER, M.R. Effects of water stress on photosynthetic electron transport, photophosphorylation and metabolite levels of *Xanthium strumarum* mesophyll cells. **Planta**, Berlin, v.156, p.199-206, 1982.

SHARKEY, T.D.; SEEMAN, J.R. Mild water stress effects on carbon-reduction cycles intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v.89, p.1060-1065, 1989.

SHARP, R.E.; LeNOBLE. M.E. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 33-37, 2002.

SILVA, E.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; AZEVEDO NETO, A.D.; SANTOS, V.F. Comportamento estomático e potencial da água na folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v.17, p.231-246, 2003.

TEZARA, W., MARTÍNEZ, D., RENGIFO, E.; HERRERA, A. Photosynthetic responses of the tropical spiny shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, soil salinity and saline spray. **Annals of Botany**, London, v.92, p.757-765, 2003.

TEZARA, W.; MARÍN, O.; RENGIFO, E.; MARTÍNEZ, D.; HERRERA, A. Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. **Photosynthetica**, Prague, v.43, p.37-45, 2005.

TEZARA, W.; MITCHELL, V.J.; DRISCOLL, S.D.; LAWLOR, D.W. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. **Nature**, London, v.401, p.914-917, 1999.

TOURNEAUX, C.; PELTIER, G. Effect of water deficit on photosynthetic oxygen exchange measured using $^{18}\text{O}_2$ and mass spectrometry in *Solanum tuberosum* L. leaf discs. **Planta**, Berlin, v.195, p. 570 -577, 1995.

TURNER, N.C. Crop water deficits: a decade of progress. **Advances in Agronomy**, New York, v.39, p. 1-51, 1986.

TURNER, N.C. Further progress in crop water relations. **Advances in Agronomy**, New York, v.58, p.293-338, 1997.

UEHLEIN, N.; LOVISOLO, C.; SIEFRITZ, F.; KALDENHOFF, R. The tobacco aquaporin NtAQP1 in a membrane CO₂ transporter with physiological functions. **Nature**, London, v. 425, p.734-737, 2003.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, Berlin, v.153, p. 376-387, 1981.

WARREN, C.R.; LIVINGSTON, N.J.; TURPIN, D.H. Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziensis*) Seedlings. **Tree Physiology**, Victoria, v.24, p. 971-979, 2004.

WILSON, J.R.; LUDLOW, M.M.; FISCHER, M.J.; SCHULZE, E.D. Adaptation to water stress of the leaf water relations of four tropical forage species. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.7. p.207-220, 1980.

WINTERMANS, J.F.G.M.; De MOTS, A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. **Biochimica et Biophysica Acta**, Berlin, v.109, p.448-453, 1965.

ZEIGER, E. Sensory transduction of blue light in guard cells. **Trends in Plant Science**, London, v.5, p.183-185, 2000.

ZHU, J.K. Cell signaling under salt, water and cold stresses. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 4, p.401-406, 2001.

ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p.247-273, 2002.