

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato a)

Celso Jamil Marur

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Alcides
29/6/93



CELSO JAMIL MARUR 368

Pesquisador da Área de Ecofisiologia do
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

ESTUDO DA FISIOLOGIA E BIOFÍSICA DO ESTRESSE HÍDRICO EM
DUAS CULTIVARES DE ALGODOEIRO (Gossypium hirsutum L.)

Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas para a
obtenção do título de Doutor
em Ciências Biológicas na
área de Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Celso N. Magalhães *Novais de*

CAMPINAS

1993



AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Antonio Celso Magalhães, pela excelente orientação, dedicação, amizade e compreensão demonstradas em todas as etapas deste trabalho.

- Aos professores Dra. Maria de Fátima D. A. Pereira, Dra. Marlene Aparecida Schiavinato e Dr. Ladaslav Sodek, pela criteriosa revisão, em tempo hábil para mim, e sugestões apresentadas na fase de pré-banca. Ao Prof. Sodek, novamente, pelas sugestões também apresentadas ao longo do trabalho.

- Ao Instituto Agronômico do Paraná, IAPAR, pela oportunidade concedida para realização do curso.

- À CAPES, pela bolsa de estudos e auxílio financeiro.

- Ao Prof. Dr. Paulo Mazzafera, responsável, inicialmente, pelas atividades por mim desenvolvidas no Departamento de Fisiologia Vegetal, pela amizade, dedicação e ajuda na coleta de dados e elaboração de alguns experimentos.

- Aos Pesquisadores Científicos da Seção de Algodão do Instituto Agronômico de Campinas, em especial aos Dr. Imre Lajos Gridd-Papi e Dr. Milton Geraldo Fuzzato, por todo apoio e sugestões oferecidas.

- Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Angelocci, da ESALQ, e à Dra. Tatiana Deane A. Sá, da EMBRAPA-Belém, pelas discussões e pelo empréstimo das câmaras de pressão, sem as quais este trabalho não teria sido conduzido na forma apresentada.

- Ao Pesquisador Científico Dr. Orivaldo Brunini, pela orientação no início do curso.

- Aos funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal, em

especial a Sebastiana Rodrigues Vieira dos Santos, Maria Aparecida Santos de Freitas, Dulcinéia Pereira dos Santos, Eduardo Calixto Oliveira, Dulce Regina Garcia Joaquim e João Humberto Guimarães, pela ajuda prestada o curso.

- Indistintamente, a todos os colegas do Departamento de Fisiologia Vegetal, pela amizade e incentivo.

- Aos amigos Jota e Maria Auxiliadora, Ruy Casão Jr. e Raquel Aguiar, pela ajuda na impressão dos originais deste trabalho.

- Um agradecimento especial à amiga Ivone Irmina, pela amizade e apoio, e ao colega e amigo Agostinho Dirceu Didonet, pela sincera amizade, apoio e sugestões ao longo do curso.

- Finalmente, sem saber como agradecer, peço desculpas à minha querida esposa, SANDRA ZANINI MARUR, e aos meus amados filhos, Cintya e Michel, pela ausência constante, apesar da presença. Não seria possível a execução deste trabalho sem a compreensão e constante apoio da minha família.

Dedico este trabalho ao Pesquisador-Científico do Instituto Agronômico de Campinas Dr. Imre Lajos Gridi Papp, criador das cultivares de algodoeiro em plantio nas regiões mais produtivas do país.

Dedico este trabalho, também, ao Dr. José Ricoy Pires, pesquisador e orientador de lavouras de algodão a mais de tres décadas no Estado do Paraná.

Ofereço este trabalho aos meus filhos,
Cintya e Michel,
e à minha esposa Sandra,
que há muito esperam pelo seu final.

ÍNDICE

- Agradecimentos	1
- 1 - Introdução	1
- 2 - Revisão da literatura	4
- 3 - Materiais e métodos	33
3.1 - Caracterização do sistema radicular	34
3.2 - Expansão foliar	35
3.3 - Entrada em déficit	36
3.3.1 - Trocas de CO ₂ e temperaturas do ar e da folha ...	37
3.3.2 - Potencial da água na folha	37
3.3.3 - Conteúdo relativo de água	37
3.3.4 - Atividade da enzima Redutase de nitrato in vivo .	38
3.3.5 - Avaliação do potencial osmótico	39
3.3.6 - Extração de compostos orgânicos	40
3.3.7 - Açúcares solúveis totais	40
3.3.8 - Açúcares redutores	41
3.3.9 - Sacarose	42
3.3.10 - Amido	42
3.3.11 - Nitrato	42
3.3.12 - Aminoácidos livres totais	43
3.4 - Estudo das relações hídricas através de curvas .	
pressão-volume	45
3.5 - Recuperação da turgescência	47
3.5.1 - Potencial da água na planta	48
3.5.2 - Avaliações de trocas gasosas	48
3.6 - Exportação de assimilados	49

3.6.1	- Cálculo da taxa de assimilação líquida	50
3.6.2	- Variação do conteúdo de açúcares na folha	50
3.6.3	- Cálculo da Taxa de exportação de assimilados	51
- 4	- Resultados	52
4.1	- Caracterização do sistema radicular	52
4.2	- Expansão foliar	55
4.3	- Entrada em déficit	57
4.4	- Recuperação da turgescência	69
4.5	- Curvas pressão-volume	73
4.6	- Exportação de assimilados	76
4.6.1	- Medidas biofísicas	76
4.6.2	- Balanço de carbono e exportação de fotoassimi-	
	lados	80
- 5	- Discussão	87
- 6	- Conclusões	105
- 7	- Resumos	108
- 8	- Literatura citada	111

1 - INTRODUÇÃO

O algodão é a mais importante das fibras têxteis, naturais ou artificiais, quer considerando o volume, quer o valor monetário da produção, a multiplicidade de produtos que dele se originam e a popularidade de que estes gozam. Nenhuma se rivaliza com ele quanto ao conjunto de características que dão aos tecidos diversidade de aplicação, beleza e sensação de bem-estar a quem os usa. Por sua vez, o algodoeiro é uma das plantas de aproveitamento mais completo, e oferece uma variada gama de produtos de utilização universal (NEVES, 1965).

O volume da produção, consumo, exportação e importação em nosso país são observados na tabela A. Observa-se que, nos últimos anos, o volume de importação tem aumentado, o que significa maiores evasões de divisas para o exterior.

Tabela A - Balanço de oferta e demanda de algodão em pluma no Brasil, período 1977-92 (em 1000 tons)

	Estoque	Produção	Consumo	Exportação	Importação
1977	93	590	478	40	
1978	165	489	510	36	
1979	108	545	535	0.3	
1980	117	572	570	13	2
1981	114	594	561	30	2
1982	118.6	680.5	580.6	56.5	
1983	162	586.3	556.7	180.2	2.3
1984	13.8	674.5	555.2	32.3	7.8
1985	108.6	968.8	631.4	86.6	20.5
1986	379.9	793.4	736.5	36.6	67.4
1987	467.5	633.4	774.7	174	30
1988	182.1	863.6	812	35	81
1989	279.7	709.3	859	160	130
1990	100	665.7	715	110	85.2
1991	25.9	707	700	130	250
1992	62.9	653.8	700	50	150

fonte: Anuários Estatísticos IBGE - 1977/92.

Em nossas condições, o setor algodoeiro é o segundo que mais emprega mão-de-obra na agricultura, daí a importância

desta cultura do ponto de vista sócio-econômico.

Na figura A observa-se a evolução da produtividade média de algodão no Brasil e no estado do Paraná, maior produtor nacional. Nota-se um sensível aumento da produtividade no final dos anos 70, período em que foi recomendada para plantio, na região meridional do Brasil, a cultivar IAC 17, responsável por um aumento de 30% nesta produtividade (GRIDI-PAPP et al. 1992). Observa-se, também, sensível redução da produtividade nos anos 1978 e 1983, principalmente no estado do Paraná. Estas ocorrências deveram-se à incidência de períodos de seca nas regiões produtoras, no período crítico da cultura.

A nível mundial, a maior parte do algodão é cultivado em regiões áridas, e o fator ambiental mais crítico para o crescimento e produção é o balanço anual negativo entre a precipitação pluviométrica e a evapotranspiração potencial (BIELORAI et al. 1983). Este balanço negativo resulta em altas demandas evaporativas, que podem levar, finalmente, a uma condição de estresse de água à planta.

O quadro mais recente de suprimento mundial de algodão, divulgado pelo Departamento de Agricultura dos E.U.A., indicou uma produção, para a safra 92/93, de 13.3% abaixo da safra 91/92 (CONAB, 1993). Esta situação decorreu da redução de produção observada em alguns países produtores importantes, como a China, Paquistão e Brasil. Na China, responsável por 27% da produção mundial, a redução deveu-se a problemas climáticos, com uma estiagem causando a quebra de 19% na produção (CONAB, 1992).

No estado do Paraná foi registrado um veranico na safra 92/93, que estendeu-se de dezembro a janeiro, com duração de cerca de 20 dias. Esta adversidade atingiu com maior intensidade a cultura do algodão que,

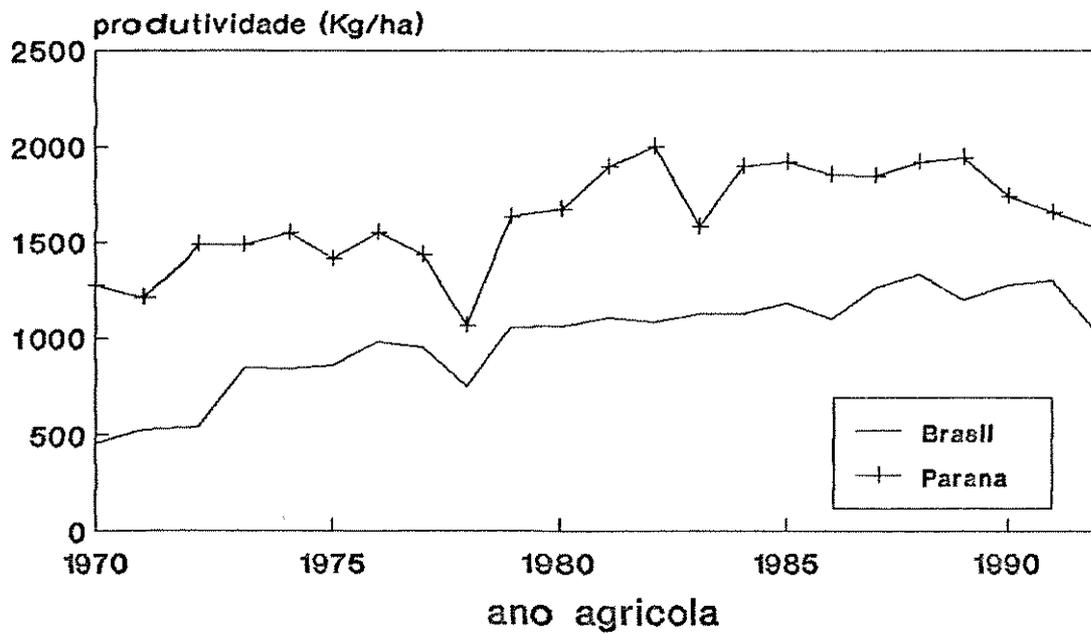


figura A - Produtividade de algodao, em Kg/ha, no Brasil e no estado do Parana, entre 1970 e 1992

em grande parte, encontrava-se no estágio de florescimento (CONAB, 1993-b). Segundo a Secretaria de Agricultura do Paraná, a produtividade no Estado foi reduzida de 25 a 30%; na região Norte, especificamente, a redução foi de 36% (FOLHA DE LONDRINA, 1993).

A ocorrência de estiagens tem sido objeto de estudos visando a identificação dos seus efeitos sobre as principais culturas (CARAMORI e FARIA, 1987). O algodoeiro, na região meridional do Brasil, está sujeito a uma sucessão de ciclos de seca, de amplitudes e intensidades variáveis. Embora a espécie apresente elevado grau de tolerância à deficiência hídrica em certas fases do desenvolvimento (DOORENBOS e KASSAN, 1979), a produção de algodão tem sido prejudicada, em alguns anos, em função da ocorrência dessa adversidade climática (MARUR, 1991).

A recomendação de variedades de algodoeiro para plantio é atribuição dos Institutos de Pesquisa Agrícola, mantidos pelos governos estaduais e federal. Para ser recomendada, uma cultivar de algodoeiro deve atender aos segmentos da produção no campo, dos beneficiadores e das indústrias de fiação. Procurando atender ao segmento da produção, é interessante que o material apresente, entre outras características, uma capacidade relativa de tolerância ao estresse de água (IAPAR, 1993). A tolerância ao estresse pode ser obtida por plantas com sistema radicular mais desenvolvido e/ou eficiente, ou mantendo as atividades metabólicas nas folhas, através da turgescência do tecido.

Considerando a importância da cultura do algodoeiro no contexto agrícola nacional, e os riscos de estiagem a que esta é submetida, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar alguns parâmetros fisiológicos e do desenvolvimento de duas variedades de algodoeiro submetidas a défices crescentes de água e à recuperação da turgescência.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

De um modo geral, o nível de hidratação das plantas pode ser estimado através de sintomas visuais, ou medido quantitativamente em termos do conteúdo ou estado de energia da água na planta. A razão do interesse da medida do conteúdo de água na planta difere conforme as necessidades e objetivos dos usuários, que requerem diferentes tipos de informações, quais sejam (KRAMER, 1988-a):

- 1. determinação da frequência ou momento da irrigação, de interesse dos agricultores;
- 2. estabelecimento de condições apropriadas de disponibilidade hídrica para os procedimentos de seleção em populações de plantas, de interesse dos melhoristas vegetais;
- 3. estudos dos efeitos do estresse de água no crescimento e produtividade de uma cultura, de interesse dos agrônomos fitotecnistas e
- 4. avaliação dos efeitos do estresse hídrico nos processos fisiológicos e bioquímicos, de interesse dos fitofisiólogos e ecologistas.

Para os dois primeiros grupos, KRAMER (1988-a) comenta que observações visuais, tais como enrolamento de folhas, alterações do ângulo de inserção do folíolo, e da coloração das folhas, são muitas vezes indicativos suficientes. Além destas, avaliações mais detalhadas, como profundidade do sistema radicular, ajustamento osmótico e tolerância à dessecação, são necessárias para proceder-se a um trabalho completo de seleção.

Para o grupo de fitotecnistas é importante entender o que causa diferenças na tolerância ao estresse entre espécies e cultivares. Isto requer estudos comparativos do comportamento da planta em vários

estágios de desenvolvimento, e medições quantitativas do grau de estresse a que elas são submetidas.

Finalmente, a avaliação dos efeitos do estresse de água no crescimento e produtividade, que será o objetivo deste trabalho, requer estudos de processos como fotossíntese, respiração, metabolismo do nitrogênio, translocação, partição de assimilados e níveis de hormônios, acompanhados por medições quantitativas do estresse de água na planta.

Uma grande diversidade de procedimentos são utilizados para a medida do potencial da água (e seus componentes) em tecidos vegetais. A maioria dos métodos para estimativa do potencial da água envolve determinações da pressão de vapor da água em equilíbrio, ou o uso de câmaras de pressão. Os sensores utilizados na técnica de medida da pressão de vapor da água em equilíbrio, comumente psicrômetros ou higrômetros, são adequados para a maioria dos materiais vegetais, e são considerados precisos. No entanto, requerem equipamentos complementares de difícil acesso, necessitam de longo tempo de equilíbrio, e são, geralmente, inadequados para uso no campo. Por sua vez, o método da câmara de pressão é apropriado para medição do potencial da água da maioria das folhas e ramos e, com as devidas precauções, é considerado confiável. As medições são rápidas e o equipamento é simples e adequado para uso no campo.

Weatherley 1970 e Passioura 1980 apud TURNER (1988), mostraram que a câmara de pressão utilizava fundamento análogo à membrana de pressão usada em física de solos, e que o instrumento mede o potencial matricial do apoplasto. Este parâmetro, por sua vez, é similar ao potencial total da água do simplasto adjacente, uma vez que a

resistência ao fluxo entre o simplasto e o apoplasto não é grande, e que o potencial osmótico da água do apoplasto é próximo de zero.

Embora KRAMER (1988-a) considere que a medição do potencial da água tem sido, há muitos anos, o método de avaliação preferido, por ser facilmente obtido e por ser baseado em princípios físicos sólidos (SCHOLANDER, 1965; TYREE e HAMMEL, 1972), ele próprio considera a possibilidade de que outros métodos podem ser melhor empregados, dependendo do objetivo.

Devido à dificuldade de relacionar o potencial da água com processos metabólicos, SINCLAIR e LUDLOW (1985) criticaram o uso deste parâmetro e propuseram que o estado da água na planta deve ser medido em termos de alteração de volume celular, expresso como conteúdo relativo de água (CRA). Aqueles autores forneceram dados indicando que a fotossíntese, síntese de proteínas, redução de nitrato e senescência foliar correlacionaram-se melhor com CRA do que com o potencial da água.

Embora a determinação do CRA seja um método simples para monitorar o estado de hidratação da planta, KRAMER (1988-b) critica estas medidas devido à impossibilidade de relacioná-las com o estado da água no solo.

De acordo com CORTES e SINCLAIR (1986), existem duas principais abordagens para sustentar a sobrevivência das plantas sob condições de seca. A primeira é maximizar a extração da água do solo em contato com a rizosfera, e/ou estender as raízes para profundidades maiores, de modo que a reserva de água seja aumentada. A segunda abordagem é manter a atividade fisiológica das plantas através da manutenção da turgescência do tecido, obtida pela diminuição do seu potencial osmótico.

BOYER et al.(1980) compararam, em condições de campo, o

comportamento de genótipos antigos e recentes de soja, com relação à restrição da disponibilidade de água. Verificaram que cultivares mais antigas, com menores rendimentos, apresentavam-se mais estressadas que aquelas criadas mais recentemente, e com maiores rendimentos. O estresse, nestes materiais, foi mais intenso em torno do meio-dia, atingindo magnitude suficiente para inibir a fotossíntese e outros processos metabólicos durante o período da tarde. Ao comparar as densidades radiculares das duas cultivares que exibiram comportamentos contrastantes com relação ao déficit de água, os autores observaram que o material menos estressado apresentou uma densidade radicular maior que a cultivar mais estressada.

Hadas e Stibbe 1973 apud BIELORAI et al. (1983), observaram que sementes de milho, grão de bico e sorgo desenvolveram radículas em solos com baixa umidade, enquanto que o mesmo não foi observado para sementes de algodão.

KASPAR et al. (1984) observaram que as taxas de alongamento da raiz principal de cultivares de soja de um mesmo grupo de maturação crescidas em tubos de plástico, diferiram em até 1,3 cm/dia. Aos 56 dias após o plantio, as cultivares com maiores taxas de alongamento alcançaram, no campo, uma profundidade 10 cm maior. Aos 80 dias já não houve diferença na profundidade atingida pelos dois materiais.

Durante um período de seca, a manutenção dos processos vitais e, conseqüentemente, a sobrevivência das plantas, depende da manutenção da turgescência da célula.

A manutenção da turgescência pode ser promovida pela diminuição do potencial osmótico através do ajustamento osmótico (JONES

et al, 1981). Ajustamento osmótico é definido como o "abaixamento do potencial osmótico no simplasto resultante da acumulação líquida de solutos em resposta ao déficit de água ou salinidade" (TURNER e JONES, 1980 e HINCKLEY et al., 1980).

O ajustamento osmótico também pode ser atingido pela acumulação de ions. Ions inorgânicos, especialmente K^+ , Na^+ e Cl^- , têm importante papel na regulação da turgescência em plantas inferiores, e também em alguns sistemas reguladores em plantas superiores, tais como movimento de células-guarda (RASCKE, 1975).

As espécies diferem consideravelmente em suas capacidades de se ajustarem osmoticamente em resposta a défices de água. JONES e TURNER (1978) mostraram que plantas de sorgo, com o suprimento de água lentamente decrescido, diminuíram o potencial osmótico em plena turgescência em 0,4 MPa, quando o potencial da água antes do amanhecer foi de -0,4 MPa, enquanto que o ajustamento osmótico foi de 0,9 MPa quando o potencial da água atingiu -1,6 MPa.

ACKERSON e HEBERT (1981) estudaram o ajustamento osmótico em folhas de algodoeiro totalmente expandidas (do entrenó 5) e em desenvolvimento (entrenó 8). Nas folhas totalmente expandidas foi verificado um acúmulo de amido, resultando numa concentração de solutos devido à diminuição do volume osmótico celular. Nas folhas em desenvolvimento, o ajustamento osmótico ocorreu primariamente por acumulação de solutos, pois praticamente não houve acumulação de amido.

Comparando duas linhagens de algodoeiro, com comportamentos extremos na capacidade de manter a turgescência foliar, QUISENBERRY et al. (1985) verificaram que a linhagem mais eficiente atingiu o Ψ_p igual a zero em Ψ_a da folha de aproximadamente -2,5 MPa, enquanto que na linhagem com menor capacidade de manter a turgescência o Ψ_p igual a

zero ocorreu em Ψ_a de -1,9 MPa.

Duas variedades de trigo com diferentes características de ajustamento osmótico também comportaram-se diferentemente com relação à fotossíntese. A capacidade fotossintética foi mantida em nível mais elevado em tecido foliar de plantas estressadas da cultivar com maior ajustamento osmótico (GUPTA e BERKOWITZ, 1987). Os autores concluíram que o mecanismo de ajustamento osmótico permite a manutenção de um volume relativamente maior do protoplasto e, presumivelmente, do cloroplasto, em baixos Ψ_a , reduzindo a inibição do potencial fotossintético do cloroplasto.

GERMA e KRIEG (1992-b) concluíram que diferenças observadas na resistência estomática, e na taxa de assimilação de dois genótipos de sorgo, não puderam ser explicadas com base nas suas capacidades de ajustamento osmótico.

Algumas espécies podem ser limitadas em suas capacidades de diminuir o potencial osmótico através do ajustamento osmótico, e assim a manutenção da turgescência pode ocorrer somente através da diminuição passiva do potencial osmótico associado com a diminuição do volume de água da folha (HINCKLEY et al, 1983, MEINZER et al, 1986), ou através de alterações na elasticidade da parede celular (EVANS et al, 1992). A manutenção da pressão de turgescência através de decréscimos passivos do potencial osmótico pode ser energeticamente menos oneroso do que o ajustamento osmótico, pois este último requer a síntese, transporte e a manutenção da concentração de solutos (McCREE et al., 1984).

Estimativas válidas de ajustamento osmótico só podem ser feitas em Ψ_s corrigidos para plena hidratação, ou em turgescência zero, para que seja removido o efeito da desidratação. Alterações diurnas no

Ψ_s de um híbrido de sorgo, em resposta ao estresse de água, foi de 1,1 MPa antes do florescimento e 1,4 MPa durante o enchimento de grãos, sendo que a concentração passiva de solutos associado com a desidratação foi responsável por 50 % da variação do Ψ_s (GERMA e KRIEG, 1992a).

As plantas podem tolerar mais a seca quando o suprimento de água é interrompido sob condições que favorecem o ajustamento osmótico (TURNER e JONES, 1980; FLOWER e LUDLOW, 1986). HANSON e HITZ (1982) comentam que para que haja elicitação do ajustamento osmótico e também das características da parede celular, as plantas devem ser cultivadas em condições de campo ou em recipientes profundos e de grandes dimensões. O estresse de água não deve ser imposto pela desidratação de órgãos destacados, pela imersão dos tecidos em soluções com alta concentração osmótica, ou pela interrupção do suprimento de água em plantas cultivadas em recipientes pequenos. Portanto, experimentos envolvendo estresse de curta duração, embora convenientes para estudos metabólicos, podem ser inadequados para elicitar a expressão total do ajustamento osmótico.

A maioria dos métodos para estimativa do potencial osmótico de tecidos vegetais consiste na determinação da pressão de vapor da água em equilíbrio com amostras de tecido congelados e descongelados, ou seiva extraída do tecido. Estes métodos são considerados confiáveis, e podem ser aplicados para materiais coletados no campo, mas também requerem equipamentos complementares além de, para amostras intactas, exigirem longo tempo para equilíbrio.

Como, em geral, as estimativas do potencial de pressão são obtidas pela diferença entre os potenciais da água e o potencial osmótico, os dados adquirem validade quando estes dois parâmetros são medidos na mesma amostra e pelo mesmo método. Procedimentos híbridos (medição do

potencial da água com a câmara de pressão e estimativa do potencial osmótico com psicrômetro) podem resultar em potenciais de pressão negativos, muitas vezes de substancial magnitude (CUTLER et al., 1979).

Através da aplicação da técnica pressão-volume, originalmente introduzida por SCHOLANDER et al. (1964), podem ser estimados os valores dos componentes osmótico e pressão em uma mesma folha. As propriedades elásticas do tecido também podem ser quantificadas, bem como os volumes de água simplástica e apoplástica. A base teórica das relações pressão-volume foi descrita em detalhe por TYREE e HAMMEL (1972).

SCHOLANDER et al. (1964) mostraram que, quando as células no tecido foliar atingem zero de pressão de turgescência, a pressão P_c aplicada na câmara relaciona-se com a água na célula, fenômeno descrito pela seguinte expressão:

$$1/P_c = 1/P_{SS} = (V_s - V) / R T n,$$

onde V_s é o volume de água no simplasto da folha túrgida, V é o volume de água perdida pela folha, P_{SS} é o potencial osmótico do simplasto, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura absoluta e n o número de moles de soluto no simplasto. Segundo os autores, supõe-se que as células agem como perfeitos osmômetros, e que o volume de água no apoplasto não se altera durante o secamento ou perda de água pela folha.

Geralmente, as relações pressão-volume são definidas como o inverso da pressão aplicada ($1/P$) versus o volume acumulado ou o peso da seiva retirada, ou o conteúdo relativo de água (CRA) no tecido. Estas relações resultam numa curva pressão-volume característica, que apresenta-se, inicialmente, curvilínea devido à soma do potencial osmótico com o potencial de pressão. Quando a porção linear da curva é alcançada, a pressão de turgescência das células do tecido cai para zero, e o poten-

cial da água torna-se igual ao potencial osmótico (MELKONIAN et al. 1982). Assim, estimativas do potencial osmótico são obtidas da região linear em que o volume da seiva retirada varia linearmente com $1/P$.

A extrapolação da porção linear da curva $1/P$ versus CRA até a ordenada permite a avaliação do potencial osmótico a plena turgescência (Ψ_S^{100}). JONES e TURNER (1980) sugerem que a comparação deste parâmetro obtido em plantas adequadamente supridas com água, e de plantas submetidas a um déficit de água, fornece uma estimativa do ajustamento osmótico.

No ponto da curva pressão-volume a partir do qual os valores se dispõem linearmente, obtém-se o potencial osmótico em turgescência zero (Ψ_S^0). O grau de ajustamento osmótico em turgescência zero também pode ser estimado ao comparar-se os valores do Ψ_S^0 obtidos em plantas adequadamente supridas com água com o de plantas submetidas a um déficit.

Em trigo, duas cultivares com diferentes sensibilidades ao estresse de água foram comparadas com relação ao ajustamento osmótico (JOHNSON et al., 1984). Folhas pre-estressadas das duas cultivares tiveram Ψ_S^{100} e Ψ_S^0 significativamente menores do que folhas não estressadas, indicando ajustamento osmótico; no tratamento pre-estressado, a cultivar mais resistente apresentou um ajustamento osmótico maior, com valores de Ψ_S^{100} e Ψ_S^0 de -1.61 e -2.44 MPa, enquanto a menos resistente apresentou valores de -1.4 e -1.98 MPa, respectivamente. No tratamento não estressado os valores de Ψ_S^{100} e Ψ_S^0 foram de -1.16 e -1.56 MPa para as duas variedades.

O Ψ_S^{100} é o indicador mais direto do ajustamento osmótico, pois ele indica a quantidade de soluto no maior volume possível de água no simplasto. A magnitude do Ψ_S^0 depende do Ψ_S^{100} e do módulo volumétrico de elasticidade da parede celular. Ψ_S^0 estabelece um limite para Ψ_a no qual um Ψ_p positivo pode ocorrer na folha, de modo que quanto

menor o Ψ_S^0 , maior o limite (CHEUNG et al., 1992).

O parâmetro módulo volumétrico de elasticidade, E , é utilizado para descrever a proporcionalidade entre o volume e a pressão de turgescência da célula. As alterações de volume ocorrem quando a célula absorve ou perde água, e tais mudanças no volume celular causam deformação na parede e, conseqüentemente, alteram a pressão de turgescência da célula (COSGROVE, 1988).

A elasticidade da parede celular (inverso do módulo) determina a taxa na qual a pressão de turgescência diminui com o decréscimo do volume de água na célula (TYREE e HAMMEL, 1972). Paredes celulares relativamente elásticas são caracterizadas por decréscimos menores na pressão de turgescência para cada decréscimo no volume de água na folha, comparadas com paredes celulares menos elásticas. Assim, a manutenção da pressão de turgescência pode ser facilitada por aumentos maiores na elasticidade do tecido à medida que o potencial da água diminui. A diferença entre Ψ_S^{100} e Ψ_S^0 tende a ser menor em células com parede celular mais rígida.

Quando o valor de E é grande, há um crescimento foliar menor, e vice-versa. Para uma determinada perda de água (dV) uma célula com alto valor de E perderá mais pressão de turgescência do que uma célula com baixo valor de E .

NON-MEYER e GINZBURG (1969) comentam que, quando o conteúdo e o potencial da água no tecido diminuem, o tecido com alta elasticidade tem maior capacidade de manter a pressão de turgescência. O aumento da elasticidade do tecido tem sido considerado como um mecanismo adicional para diminuir o potencial osmótico em turgescência zero, e fornecer condições para manter o crescimento (PAVLIK, 1984). Daí a importância de

E para a economia de água nas plantas.

Estimativas de E são obtidas da região curvilínea da curva pressão-volume, onde a turgescência é mantida. Segundo MELKONIAN et al (1982), não são apropriadas as estimativas de E que consideram todos os pontos da curva, exceto aqueles que se encontram na região linear.

São conflitantes os resultados das alterações de E em função das diferenças de adaptabilidade ao estresse hídrico.

Valores similares de E foram estimados para duas variedades de sorgo que mostraram diferenças quanto a resistência à seca (JONES e TURNER, 1978), e nenhuma alteração significativa em E , resultante de tratamento para condicionamento à seca, foi observado em algodão (HSIAO et al, 1978), arroz (CUTLER et RAINS, 1977) ou girassol (JONES e TURNER, 1980). CAMPBELL et al. (1979) concluíram que E foi relativamente insensível às condições ambientais, depois de comparar folhas de trigo de tratamentos úmidos e secos.

Enquanto o estresse de água induziu decréscimo de E em *Vicia faba* (KASSAM e ELSTON, 1974), um valor de E duas vezes maior foi relatado para sorgo submetido a estresse (JONES e TURNER, 1978), e maiores valores de E foram estimados para *Pinus* submetido ao estresse (MEIER et al., 1992).

Em duas cultivares de trigo com diferentes sensibilidades ao estresse, JOHNSON et al (1984) observaram valores maiores de E nos tratamentos estressados, em relação aos irrigados, bem como na cultivar mais resistente em relação à mais susceptível. WILSON et al. (1980) observou um aparente aumento em E associado com estresse de água em forrageiras tropicais. MELKONIAN (1982) observou que folhas de trigo de tratamentos pre-estressados tiveram E superior que de folhas não estressadas.

SCHONFELD et al. (1988) estudaram as relações hídricas e a produção de grãos das mesmas cultivares estudadas por JOHNSON et al. (1984). Embora não tenham encontrado diferenças genotípicas nos Ψ_a , Ψ_s e Ψ_p , o valor de CRA foi mantido significativamente maior nas plantas da variedade mais resistente, sob condições de estresse. Os autores acreditaram que os valores superiores de CRA foram consequência do maior ajustamento osmótico ou das menores elasticidades do tecido.

Plantas de algodoeiro foram submetidas a lenta e gradativa diminuição da quantidade de água fornecida, tendo-se verificado que folhas de plantas melhor adaptadas mantiveram a turgescência em valores de potencial da água baixos o suficiente para prejudicar seriamente muitas espécies mesófitas (HSIAO et al. 1978). Utilizando-se curvas pressão-volume, verificou-se que o acúmulo de solutos pareceu ser o principal fator responsável pela manutenção da turgescência, enquanto a elasticidade do tecido aparentemente não contribuiu para esse processo.

TURNER (1986) concluiu que a elasticidade do tecido foliar não é influenciado por défices de água.

A modulação do crescimento foliar é um fenômeno crítico para a definição da produtividade das cultivares, pois estes processos determinam, em última análise, a área fotossintética total disponível para a interceptação da luz e para a assimilação do carbono.

Uma vez que a manutenção da turgescência celular, a despeito da redução no potencial da água, é considerada uma importante manifestação de tolerância à seca, a taxa de expansão foliar, que é fortemente dependente da turgescência do tecido, pode ser utilizada, conseqüentemente, como parâmetro integrador dos efeitos do estresse

hídrico nas plantas.

A expansão celular é dependente do influxo de água que ocorre em baixos potenciais osmóticos resultantes do aumento líquido de solutos na célula. O Ψ_p , por sua vez, gera a força mecânica necessária para que ocorra o alongamento celular.

A capacidade de expansão foliar também pode ser controlada pelas propriedades físicas da parede celular, como o coeficiente de extensibilidade e pela força mecânica mínima aplicada à parede para que ocorra o alongamento celular (van VOLKENBURGH e CLELAND, 1984).

LEVITT (1980) assinala que o crescimento foliar em extensão é um dos primeiros processos afetados pela deficiência hídrica. O aumento da área foliar em plantas sob déficit hídrico é afetado, como consequência, pela diminuição do Ψ_p .

CUTLER e RAINS (1977) encontraram um ajustamento linear entre o crescimento de folhas de algodão e o potencial da água. Estes autores comentaram que esse foi um resultado surpreendente, pois a taxa de crescimento é estritamente correlacionada com a pressão de turgescência, e este último é um parâmetro não-linearmente dependente do potencial total da água. Os autores observaram que, em plantas não submetidas anteriormente a qualquer período de estresse, o crescimento foliar foi paralisado quando o potencial da água antes do alvorecer alcançou $-1,5$ MPa.

Em plantas de arroz cultivadas em vasos verificou-se que a expansão foliar diária foi estritamente relacionada com o potencial da água antes do alvorecer. A sensibilidade da expansão foliar ao estresse e o potencial da água abaixo do qual o crescimento foi paralisado variou entre cultivares, indicando capacidades diferenciais para manutenção da turgescência dentre os materiais estudados (CUTLER et al., 1979).

RICHARDSON e McCREE (1985) verificaram que o efeito combinado de estresses salino e de água resultou num estresse de água com desenvolvimento mais lento (devido a menor perda de água por unidade de área foliar), possibilitando o ajustamento osmótico e permitindo expansão foliar e ganho de carbono em baixos valores de Ψ_a na folha.

McCREE e DAVIES (1974) verificaram que o Ψ_a na folha caiu para -1,7 MPa no momento em que as folhas de plantas de sorgo tiveram o seu crescimento paralisado.

Em folhas de soja, o crescimento foi fortemente reduzido em Ψ_a abaixo de -0.4 MPa e cessou quando o Ψ_a caiu abaixo de -1,2 MPa (MYERS et al., 1986).

Em folhas túrgidas de milho, a maior taxa de expansão foliar foi observada em torno das 13:00 h, e foi coincidente com a máxima taxa de exportação de assimilados (KALT-TORRES e HUBER, 1987).

TURNER (1985), no entanto, questiona o papel da turgescência foliar como o único elemento transdutor dos efeitos do déficit de água nos processos de crescimento e fotossíntese. Este autor sugere um efeito dos hormônios de crescimento na transmissão de informações do estado da água do solo ou raiz para a parte aérea. Esta idéia, entretanto, foi criticada por KRAMER (1988), que considerou que o estresse é primeiramente detectado na parte aérea da planta.

As respostas metabólicas das plantas ao déficit de água podem ser visualizadas de duas maneiras distintas: como desequilíbrios devidos a lesões induzidas por estresse em pontos vulneráveis no metabolismo, ou como alterações potencialmente adaptativas, que envolvem processos metabólicos reguladores, e que atuam favoravelmente sobre as plantas como um todo, durante ou depois da ocorrência de um estresse (HANSON e

HITZ, 1982).

Células e tecidos vegetais mostram numerosas alterações metabólicas como consequência do estresse de água, algumas das quais podem ter significancia adaptativa (HANSON e HITZ, 1982). Estas respostas, geralmente são descritas em algum dos 3 seguintes níveis:

- perturbação das vias metabólicas, levando à acumulação ou perda de metabólitos;
- alterações nas atividades de enzimas, e
- mudanças nos padrões de síntese de proteínas, algumas de funções desconhecidas.

Como exemplos do primeiro nível incluem-se a acumulação de carboidratos, ácidos orgânicos, aminoácidos, compostos quaternários de amônia e ABA. Com relação ao segundo nível, pode-se utilizar como exemplo a atividade da enzima redutase de nitrato.

JONES et al. (1980) estudaram o efeito de um estresse moderado (Ψ_a de -0,85 MPa antes do alvorecer), e de um mais intenso (Ψ_a de -1,3 MPa), em sorgo e girassol. Os potenciais osmóticos das plantas estressadas foram, respectivamente, 0,25 e 0,49 MPa menores que das plantas controle. O ion K^+ também experimentou expressivos aumentos nas concentrações, nos tratamentos com maior estresse.

STEWART e LARHER (1980) e HANSON e HITZ (1982) comentam que ocorre uma acumulação de aminoácidos em resposta ao déficit de água, o que induz um ajustamento dinâmico no metabolismo de N.

NAVARI-IZZO et al. (1990) sugerem que o aumento nos teores de aminoácidos livres pode contribuir para a tolerância da planta à seca aumentando a hidratação relativa do protoplasto, ou servindo como reser-

va, especialmente para a síntese de enzimas específicas.

SCHOBERT (1977) sugeriu que solutos, tais como aminoácidos, podem associar-se com grupos hidrofóbicos, aumentando a estabilidade de macromoléculas sob estresse de água.

Numa situação de estresse de água, a diminuição no conteúdo protéico pode refletir uma retardação de síntese, ou uma aceleração da degradação, levando a um aumento nos teores de aminoácidos livres e/ou uma inibição da incorporação dos aminoácidos em proteínas (NAVARI-IZZO et al., 1990).

Uma vez que os efeitos da seca dependem das espécies estudadas, dos tecidos e fases fenológicas, bem como do tipo, duração e severidade do estresse, diferenças substanciais tem sido observadas no padrão de aminoácidos entre variedades (HANSON e HITZ, 1982).

No estabelecimento de défices de água em plantas de sorgo, os níveis de aminoácidos livres aumentaram de 32 para 39 mM, e de 29 para 45 mM nos estresses de níveis moderado e intenso, respectivamente (JONES et al., 1980). Os aminoácidos que mais contribuíram para estes aumentos foram os ácidos aspártico e glutâmico, prolina, alanina e valina.

ZAGDANSKA (1984) verificou que, em folhas estressadas de trigo ocorreu aumento na concentração dos aminoácidos aspartato, alanina e glutamato, que poderiam auxiliar na manutenção do fluxo de energia do cloroplasto.

Acumulação de prolina pode representar uma resposta geral ao estresse, uma vez que esta ocorre sob estresse salino (CHU et al., 1976), de frio (CHU et al., 1974) e também ao estresse de água (KEMBLE e MACPHERSON, 1954; BARNETT e NAYLOR, 1966; ROUTLEY, 1966; STEWART, 1972; SINGH et al., 1973).

Segundo KARAMANOS et al. (1983), são tres as principais causas

da acumulação de prolina em folhas estressadas. A primeira, considerada como principal contribuição desta acumulação prolina, é a estimulação da síntese a partir do ácido glutâmico. A segunda é a inibição da oxidação da prolina em outros compostos solúveis, e a terceira é a inibição da síntese protéica. A conversão de ácido glutâmico a prolina, e daí para outros compostos orgânicos (oxidação de prolina), ocorre prontamente em folhas túrgidas de cevada, e é estimulada por altas concentrações de prolina. Assim, STEWART et al. (1977) sugerem que a oxidação de prolina funciona como um mecanismo de controle para manter baixos níveis celulares deste aminoácido em tecidos túrgidos. Em tecidos estressados, no entanto, a taxa de oxidação de prolina é muito reduzida.

A intensa acumulação de L-prolina em folhas murchas de algumas plantas, oferece um sistema relativamente simples para o estudo da resposta metabólica da planta à seca. Em termos gerais, a acumulação deve resultar da combinação, em algum nível, de um aumento da síntese e decréscimo da utilização de prolina (BOGGESS et al., 1974). STEWART e BOGGESS (1978) verificaram, também, a reconversão dos produtos da oxidação de prolina em folhas estressadas de cevada.

Em duas variedades de sorgo com comportamento contrastante com relação à tolerância à seca, o conteúdo de prolina livre nas folhas não se alterou até que o potencial da água na folha fosse reduzido para valores -1,4 e -1,6 MPa, quando então uma rápida acumulação foi iniciada (BLUM e EBERCON, 1976. Neste intervalo de potencial da água inicia-se, também, o fechamento estomático e o murchamento de folhas em sorgo). As cultivares diferiram significativamente quanto ao máximo de prolina acumulada, cujos valores foram significativamente correlacionados com a capacidade de recuperação do estresse, possivelmente pelo fato da

prolina ser usada como fonte de energia respiratória nas plantas em recuperação. A sua utilização como fonte de energia deve ocorrer especialmente quando o conteúdo de carboidrato é baixo.

Em alfafa, o conteúdo de prolina livre não mostrou alterações apreciáveis até que o Ψ_a na folha alcançasse valores menores que -2,1 MPa (IRIGOYEN et al., 1992). Em Ψ_a de -2,6 MPa, o conteúdo de prolina foi de aproximadamente 11 $\mu\text{mol/gMS}$, que correspondeu a 17 vezes o conteúdo no tecido não estressado. Em folhas novas de plantas de cevada, RIAZI et al. (1985) observaram um Ψ_a limiar de -1.0 MPa para indução da acumulação de prolina; este Ψ_a correspondeu ao ponto de turgescência zero.

Os níveis de prolina em plântulas estressadas de *Pinus* foram 6 vezes maiores do que em plântulas controle (MEIER et al., 1992). RAJAGOPAL et al. (1977) verificaram que em folhas estressadas de trigo, a acumulação de prolina resultou numa concentração dez vezes maior em relação ao tratamento não estressado.

LEVY (1983) associou a acumulação de prolina em tecidos tuberosos de batata com relativa susceptibilidade à seca, enquanto KARAMANOS et al. (1983) observaram que as quantidades aumentadas de prolina livre em duas cultivares de trigo podiam estar associadas a mecanismos mais eficientes de escape à seca. VENEKAMP (1989) comentou que em plantas submetidas a défices de água, a acumulação de prolina, junto com asparagina, pode ter um papel benéfico ao controlar o pH do citossol e na manutenção da atividade respiratória.

Zielinska e Bandurska apud HILL (1992), observaram diferenças na taxa e quantidade de prolina livre acumulada entre variedades de cevada, a saber: Diva > Havila > Polon. A variedade Diva, a mais susceptível ao estresse, mostrou a mais alta acumulação e a Polon, aparente-

mente a mais tolerante, acumulou menos prolina. Foi detectada uma relação entre a perda da turgescência nas folhas e a acumulação de prolina.

TULLY et al. (1979) e HANSON E HITZ (1982) relatam que não há correlação entre acumulação de prolina e resistência ao estresse de água.

O nitrato é a principal fonte de nitrogênio utilizado pela maioria das plantas cultivadas. A redutase de nitrato (RN) é a primeira enzima na via de assimilação do nitrato, e provavelmente representa o passo que limita a taxa neste processo (CAMPBELL, 1988). Ela responde, aparentemente, a alterações metabólicas e fisiológicas das plantas, e tem sido frequentemente usada para indicar estresse e outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas (SRISVATAVA, 1980).

O estresse de água é o fator responsável pela redução da atividade da redutase de nitrato (ARN) em cevada (HUFFAKER et al., 1970), milho (MORILLA et al., 1973), sorgo (TEARE et al., 1974), soja (MANAM, 1977), trigo (HEUER et al., 1979), e café (MEGURO e MAGALHÃES, 1983).

ACKERSON et al. (1977) verificaram que a ARN foi adversamente afetada em plantas de algodoeiro submetidas ao estresse de água. Aqueles autores estudaram o comportamento da enzima quando o Ψ_a na folha, ao meio dia, atingiu um valor 0.9 MPa menor que nas plantas controle. A RN teve a sua atividade reduzida para valores de aproximadamente 30% daqueles observados no tratamento controle.

Em arroz, a queda significativa da ARN somente ocorreu quando o CRA decresceu em 15%, comparado com plantas controle (SAIRAM e DUBE, 1984). Em trigo, reduções no CRA de 93.3 para 80.9% provocou diminuição

de 49% na ARN (PLAUT, 1973).

HUFFAKER (1970) verificou que a ARN recuperou-se completamente 20 horas após a irrigação de plantas estressadas de sorgo. Em plântulas estressadas de milho, a irrigação com solução nutritiva livre de nitrato resultou em completa recuperação do Ψ_a após 6 horas (MORILLA et al., 1973). Ao final deste período, a ARN também foi recuperada, alcançando o nível de 76% em relação ao controle. Uma vez que, durante este período, não ocorreram alterações nos conteúdos de nitrato no tecido foliar, aqueles autores sugeriram que os níveis de nitrato nas folhas estressadas eram suficientes para promover altas ARN. Assim, é provável que, em baixos valores de Ψ_a , tenham ocorrido impedimentos no transporte do nitrato para os sítios de indução, enquanto que, com a irrigação, o nitrato tornou-se novamente disponível para a expressão da atividade da redutase de nitrato.

RAJAGOPAL et al. (1977) verificaram que as atividades da redutase de nitrato mais baixas em trigo ocorreram em mínimos valores de CRA.

MORILLA et al. (1973) sugeriram que a diminuição na ARN em folhas de milho submetidas a baixos Ψ_a , foi devido, principalmente, a uma reduzida taxa de síntese de enzima.

O comportamento dos estômatos, em resposta ao estado da água na folha e ao ambiente, é importante na modulação da transpiração e da fotossíntese. As relações entre a resistência estomática, potencial da água e temperatura da folha, além de fatores ambientais como temperatura e umidade do ar, são particularmente importantes na manutenção do metabolismo das plantas cultivadas em condições áridas ou semi-áridas.

A regulação estomática, ou ajustamentos que facilitem a difusão do CO_2 no mesofilo, sob condições de restrição da perda de água, podem contribuir para o aumento da tolerância à seca de plantas submetidas a défices hídricos temporários.

O aumento da resistência difusiva das folhas resulta de progressivo abaixamento do potencial da água na folha. Estômatos de plantas cultivadas no campo frequentemente respondem ao potencial da água diferentemente daquelas cultivadas em câmaras de crescimento (ACKERSON et al., 1977). JORDAN (1983) relatou que a resistência estomática em folhas de plantas de algodoeiro crescidas em casa-de-vegetação variou numa faixa de 1 a 30 s/cm, dependendo da iluminação e do estado da água na planta.

BIELORAI e HOPMANS (1975) observaram que, a diferença entre as temperaturas do ar e da folha de plantas cultivadas em solo com Ψ_a de $-0,02$ MPa foi de $0,5^\circ\text{C}$, enquanto que a diferença chegou a $2,5^\circ\text{C}$ em solo com Ψ_a de $-1,6$ MPa.

Em folhas submetidas a estresse de água observa-se que a assimilação do CO_2 muitas vezes é diminuída, enquanto a concentração interna de CO_2 é mantida em níveis mais ou menos constantes (HUBER et al., 1984; SCHULZE, 1986 e WONG et al., 1985). Este padrão de resposta é frequentemente atribuído à combinação de resistências estomáticas aumentadas (componente estomático), e a inibição da capacidade fotossintética do mesofilo (componente não-estomático).

Em plantas estressadas de algodoeiro, embora a redução na assimilação de CO_2 tenha sido menor em plantas aclimatadas, a diminuição na transpiração foi similar nas plantas aclimatadas e não aclimatadas (PLAUT e FEDERMAN, 1991). Os autores justificam este comportamento devido a assimilação do CO_2 ser controlada pela condutância estomática e

atividade bioquímica, enquanto a transpiração é modulada somente pelos movimentos estomáticos.

SILVA et al. (1974) mostraram que a perda da integridade da membrana do cloroplasto de folhas sob déficit de água (Ψ_a entre -1.5 e -2.0 MPa) foi correlacionada com o aumento da atividade de fosfatases-ácidas associadas às membranas do cloroplasto. Esta alteração pode causar uma perturbação da organização estrutural da membrana do cloroplasto, e uma redução da eficiência do transporte de elétrons nos fotossistemas.

Slatyer apud BUNCE et al. (1977), observou aumento da resistência do mesofilo em baixos Ψ_a em milho e algodão, mas não em trigo, milheto e em duas espécies de *Atriplex*. BUNCE (1977) verificou que um estresse de água imposto lentamente também causou um aumento da resistência do mesofilo à absorção do CO_2 , em folhas intactas de espécies nativas do litoral e do deserto.

Em plantas de milho submetidas ao estresse de água, as alterações na concentração intercelular de CO_2 foram mínimas, independente do valor da pressão parcial de CO_2 no ambiente (WONG et al., 1985).

ACKERSON e HEBERT (1981) também observaram limitação da fotossíntese em algodoeiro devido a processos não estomáticos. Aqueles autores sugeriram que, além de reduções na condutância do mesofilo em baixos Ψ_a , a acumulação de produtos finais da fotossíntese poderia reduzir as taxas fotossintéticas, por alterações metabólicas ou na difusão interna de CO_2 . Os mesmos autores verificaram que, mesmo sob condições de baixo Ψ_a , as folhas continuaram a exportar os assimilados recentemente fixados.

GIMENEZ et al. (1992) verificaram que, em folhas estressadas

de girassol, o passo principal de limitação da fotossíntese parece estar relacionado com a quantidade e taxa de regeneração da Ribulose-1,5-bis fosfato, e não aos conteúdos de clorofila, de proteína solúvel total, ou de RuBisCo.

Por outro lado, o decréscimo da assimilação sob condições constantes de concentração de CO₂, não requer, necessariamente, uma inibição da capacidade fotossintética, mas pode estar associada ao fato de os estômatos não se fecharem uniformemente (van KRAALINGEN, 1990). TURNER et al. (1978) concluíram que a inibição inicial da fotossíntese causada pelo déficit de água é função somente do fechamento estomático, e não de resistências internas que interferem nas trocas de CO₂.

Embora a produção final seja o resultado de inúmeras e complexas interações entre a planta e o seu ambiente, duas características parecem ter um impacto principal na produtividade de uma cultura (DAIE, 1988):

- (1) a capacidade de produzir altos níveis de fotossintetatos em uma larga faixa de condições ambientais, e
- (2) a capacidade de transportar e particionar eficientemente uma alta proporção dos assimilados para órgãos economicamente importantes.

Se uma planta não alocar uma importante porção do carbono fixado para os componentes da produção, altas taxas fotossintéticas não se traduzirão em altas produções. Portanto, a regulação da fotossíntese e respiração, bem como a partição e exportação de C da folha-fonte, são de importância primária para o crescimento e a produtividade das plantas.

Variações genéticas nas taxas de fotossíntese por unidade de área foliar foram reportadas para as culturas de trigo (FISCHER et al.,

1981 e AUSTIN et al., 1986), de ervilha (HOBBS e MAHON, 1985) e feijão (IZHAR e WALLACE, 1967).

Em muitas espécies o estresse reduz a fotossíntese (que é um processo mediado, pelo menos parcialmente pelo fechamento estomático) e o efluxo de assimilados das folhas. Assim, embora muitas plantas adaptem-se parcialmente ao déficit de água por meio de osmoregulação, mantendo algum crescimento durante o período de seca, a adaptação é normalmente acompanhada de redução do crescimento e produtividade (CUTLER e RAINS, 1977).

O comportamento de 3 cultivares de soja foi estudado com relação ao efeito do estresse de água sobre a fotossíntese (BUNCE, 1988). Não foram observadas diferenças nas taxas fotossintéticas das cultivares sob condições normais de disponibilidade de água. Reduções na fotossíntese ocorreram, no entanto, à medida que foi diminuída a disponibilidade de água no solo, sendo que, em cada cultivar, 50 % da taxa fotossintética máxima foi obtida em valores de Ψ_a de -1,75, -1,5 e -1,3 MPa.

Em plantas de alfafa com Ψ_a na folha de -2,6 MPa, as trocas de carbono chegaram a 21% daquelas obtidas no tratamento controle (IRIGOYEN et al., 1992).

De uma forma geral, quanto maior a velocidade de imposição do estresse, mais drásticos são os efeitos na redução da fotossíntese líquida e condutância foliar (JONES e RAWSON, 1979).

Os principais produtos da fotossíntese são o amido e a sacarose. O amido acumula-se nas folhas como uma forma de reserva temporária de carbono, e é o principal componente da acumulação de peso seco em folhas maduras. A sacarose, que é formada de triose-fosfato originada da fotossíntese na luz e da degradação de amido no escuro, é a forma primária

ria de translocação de carbono de folhas de muitas plantas superiores. Quando a assimilação é restrita, a exportação pode ser mantida pela mobilização de reservas.

Alguns trabalhos indicam que a o processo de translocação de fotoassimilados é mais sensível que a fotossíntese ao déficit de água (HARTT, 1967 e BREVEDAN e HODGES, 1973), enquanto outros sugerem exatamente o contrário (MUNNS e PEARSON, 1974; JOHNSON e MOSS, 1976 e McPHERSON e BOYER, 1977).

São contraditórios os relatos sobre o efeito da deficiência de água na partição de compostos fotoassimilados, e sobre a quantidade de sacarose e amido armazenados na folha. Alguns autores relatam a ocorrência de uma diminuição geral de açúcares e amido em folhas estressadas de *Lolium temulentum* (WARDLAW, 1969), e soja (HUBER et al. 1984). No entanto, outros indicam que apenas açúcares solúveis são acumulados em folhas estressadas de sorgo e girassol (TURNER et al. 1978), girassol (JONES et al. 1981), trigo (MUNNS e WEIR, 1981) e algodão (ACKERSON, 1985). Em feijão (STEWART, 1971) e beterraba açucareira (FOX e GEIGER, 1985) os resultados mostram diminuição nos conteúdos de amido na folha estressada.

Em duas variedades de soja, o fechamento estomático e o decréscimo na fotossíntese foram iniciados em valores de Ψ_a na folha abaixo de -1,5 MPa. À medida que a fotossíntese diminuiu devido a redução da disponibilidade de água no solo, a acumulação de amido nas folhas também decresceu (TURNER et al., 1978). Foi observado, ainda, que as duas variedades atingiram turgescência zero em CRA entre 82 e 83% e Ψ_a entre -1,5 e -1,7 MPa.

JONES et al., (1980) verificaram que o desenvolvimento do es-

estresse hídrico em plantas de sorgo causou aumentos de aproximadamente duas vezes nos teores dos açúcares solúveis totais, dos quais a glicose participou com as mais altas concentrações. Por outro lado, o desenvolvimento dos mesmos níveis de déficit em folhas de girassol não gerou o mesmo grau de ajustamento osmótico, e não alterou as concentrações dos açúcares solúveis totais.

ZRENNER e STITT (1991) verificaram que plantas não estressadas de espinafre apresentaram altas taxas de fotossíntese, e acumularam sacarose na folha durante o dia, que era exportada durante a noite. Nas folhas túrgidas, no escuro, a sacarose foi rapidamente mobilizada durante as primeiras 4 horas, e a mobilização de amido não foi iniciada antes que os níveis de sacarose estivessem abaixo de um certo limite. Em plantas estressadas, a fotossíntese não foi inibida até que o Ψ_a atingisse valores de -1,0 MPa, que correspondeu ao CRA de 65%. Nestas plantas, as folhas particionaram o CO_2 recentemente fixado primeiramente sob a forma de sacarose e menos como amido. A mobilização do amido, entretanto, foi iniciada quando a concentração de sacarose apresentava o dobro do nível verificado nas folhas não estressadas.

DELGADO et al. (1992) encontraram diferenças pequenas e não significativas nas taxas de fotossíntese de genótipos de tabaco cultivados no campo e submetidos a estresse de água. Por outro lado, diferenças significativas foram observadas entre plantas estressadas e não estressadas, sendo que o estresse de água reduziu a fixação total de C em 45% em todos os genótipos.

Em milho, o amido foi a forma predominante de carbono retido na folha durante todo o dia. A taxa de exportação, à noite, respondeu por 87% da diminuição das reservas de carboidratos, sendo que o amido

foi a fonte predominante de C para este processo (KOSHKIN e TRETIAKOV, 1990).

Medições de açúcares solúveis e amido em folhas de algodoeiro indicam que uma fração substancial do carbono assimilado durante o dia é armazenado como amido, e transportado para fora da folha à noite (CHANG, 1980).

A taxa de exportação de carbono, calculada pela diferença entre a assimilação de carbono no período e a acumulação de peso seco nas folhas durante este intervalo fornece, uma estimativa da taxa de formação fotossintética de sacarose *in situ* (HUBER et al., 1984).

HENDRIX e HUBER (1986) observaram, em algodão, máxima taxa de assimilação de C em torno do meio dia, enquanto as maiores taxas de exportação de assimilados foram observadas ao longo da tarde. Em milho, as taxas de fotossíntese líquida e de exportação de assimilados foram maiores ao meio-dia, coincidindo com as maiores irradiâncias (KALT-TORRES et al., 1987). Durante o dia, a exportação de assimilados respondeu por 80% da fixação líquida de carbono.

DAIE (1988) relata que a capacidade de translocação de assimilados não é prejudicada sob condições de déficit de água, com base em evidências mostrando que o enchimento de grãos, em cereais estressados, continua às custas de reservas de carboidratos do caule.

Blum et al. apud DAIE (1988) verificaram se a redução no rendimento de grãos de trigo era um efeito direto do estresse de água ou se era devido a um limitado suprimento de carbono. Plantas não estressadas foram pulverizadas com um produto dessecante, para que o crescimento do grão fosse suportado somente por remobilização de assimilados. A taxa de redução no peso de grãos variou de 5 a 55% entre

os vários genótipos, e correlacionou-se bem com a taxa de redução devido ao estresse de água pós-antese, indicando que o suprimento de carbono pode ser o principal fator limitante do crescimento de grãos.

HUBER et al., (1984) verificaram que o estresse de água afetou mais fortemente a taxa de assimilação de carbono do que a taxa de exportação de assimilados em soja. Eles demonstraram que quando a taxa de troca de carbono foi reduzida em plantas estressadas de soja, a manutenção da exportação resultou, em parte, da remobilização de amido da folha.

A folha do algodoeiro é um órgão exportador de carbono já aos 7 dias após o início da expansão; os minerais, especialmente N, são importados até a sua máxima expansão. Em geral, a folha do algodoeiro atua como um órgão exportador de C e N durante aproximadamente 70 dias, até a sua senescência (HEARN e CONSTABLE, 1984).

Em geral, o algodoeiro não difere de outras plantas no que se refere ao particionamento de fotoassimilados: os assimilados produzidos pela folha são consumidos pelo dreno mais próximo; assim, uma folha sustenta o crescimento de um ramo adjacente e também da estrutura de frutificação próxima.

O crescimento exponencial de um botão floral é suportado, principalmente, pela folha adjacente. Após o florescimento, o aumento de peso desta estrutura de frutificação segue um padrão sigmoidal, sendo que aproximadamente aos 20 dias após o florescimento, obtem-se a máxima taxa de crescimento, em torno de 0,25 g/dia.

Entre 20 e 30 dias após o florescimento, a estrutura reprodutiva atinge o maior diâmetro, e as fibras o máximo comprimento. Neste

período, o aumento de peso ocorre principalmente nos tecidos da casca. Em seguida, ocorre o aumento de peso na semente e na parede da fibra juntamente com a diminuição do peso da casca, devido às perdas associadas à respiração e redistribuição de assimilados. Em termos de disponibilidade de água, o crescimento da bola não é afetado até que o Ψ_a da folha atinja de -2,7 a -2,8 MPa.

Segundo HEARN e CONSTABLE (1984) a taxa potencial de fotossíntese líquida de folhas isoladas de algodão é de cerca de 3,2 g $\text{CH}_2\text{O}/\text{m}^2\text{h}$, para uma folha totalmente expandida, bem suprida com água e nutrientes, e sob luz saturante. Entretanto, esta taxa potencial raramente é obtida, e uma folha com 50 dias de idade atinge, em geral, metade deste valor.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram investigados alguns parâmetros fisiológicos e do desenvolvimento de duas cultivares de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*, L.), submetidas a défices crescentes de água e à recuperação da turgescência. Os experimentos foram conduzidos em períodos correspondentes a fases fenológicas definidas, tais como início de formação de botão floral, e início e máximo florescimento.

Foram utilizadas as cultivares IAC 13-1 e IAC 20. A cultivar IAC 13-1 foi desenvolvida a partir da linhagem norte-americana ACALA 5675 (CAVALERI et al., 1975). Em experimentos de comparação de cultivares na década de 60, este material apresentou alguma tolerância ao estresse de água (INFORZATTO e FUZZATTO, 1967). Segundo aqueles autores, a conclusão baseou-se no fato do material ter sido selecionado numa condição de deficiência de água no solo.

O porte da IAC 13-1 é 10 a 15% maior que a IAC 20, esta última originada de uma seleção da cultivar IAC 17, que é, por sua vez, proveniente de seleções genealógicas da cultivar norte-americana Auburn 56 (GRIDI-PAPP et al., 1984). A cultivar IAC 20 tem sido a cultivar mais utilizada nas regiões algodoeiras do Brasil meridional nos últimos anos.

Ao longo deste trabalho foram conduzidos os seguintes ensaios:

- Caracterização do sistema radicular;
- Expansão foliar;
- Entrada em déficit;
- Estudo das relações hídricas através de curvas pressão-volume;
- Recuperação da turgescência;
- Exportação de assimilados.

3.1 - Caracterização do sistema radicular

O experimento foi conduzido em uma área de solo homogêneo da Estação Experimental do Instituto Agronômico do Paraná, em Londrina, PR.

A semeadura foi feita em 7 linhas de 15 m de comprimento, espaçadas de 1 m, numa densidade de 5 plantas por m². Durante o ensaio, conduzido no ano agrícola 1991/92, as plantas receberam os tratamentos culturais normalmente recomendados para a cultura.

Aos 40 e 80 dias após a emergência, estádios de início de formação de botão e máximo florescimento, respectivamente, procedeu-se à coleta de raízes de 3 plantas contíguas, localizadas nas 3 linhas centrais, de cada cultivar. As raízes foram retiradas a cada 10 cm de profundidade, em um volume de 0.02 m³ de terra por camada. As coletas, em profundidade, foram realizadas até que não foi mais encontrada raiz numa camada.

O material foi lavado e, em seguida, separadas a raiz principal, as secundárias e terciárias. As raízes foram submetidas à secagem a 70°C até peso constante, e pesadas com precisão de 0.001 g. Determinou-se, para cada camada, as médias e os desvios-padrões.

A parte aérea das plantas também foi coletada para determinação do peso da matéria seca de caule, folhas e estruturas de frutificação.

A primeira coleta foi realizada em um período com ocorrência de deficiência de água no solo até os primeiros 40 cm de profundidade. Na segunda coleta havia disponibilidade de água em todo o perfil do solo.

3.2 - Expansão foliar

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, em vasos com volume de 18 l de um substrato formado por terra, areia, torta de mamona e um adequado suprimento de adubo mineral, composto por Salitre do Chile, Super-fosfato Triplo e Cloreto de Potássio. Seis a oito sementes foram semeadas por vaso, e dez dias após a emergência procedeu-se à primeira raleação, deixando-se tres plantas por vaso. Aos vinte dias procedeu-se à raleação final, mantendo-se a planta mais vigorosa no vaso. As plantas foram submetidas aos tratos fitossanitários normalmente preconizados para a cultura.

A cada dois dias, a partir da emergência, os vasos foram supridos com água e a cada duas semanas as plantas receberam 0.5 l de uma solução de Hoagland $1/2$ concentração. Estes procedimentos foram aplicados a todos os experimentos conduzidos em casa de vegetação.

Quando as plantas das duas cultivares atingiram o início do florescimento, procedeu-se a uma última irrigação.

A medida que as plantas passaram a experimentar restrição na disponibilidade de água, foram feitas as avaliações da expansão foliar, através das medidas do comprimento da folha. O potencial da água da folha foi determinado por meio de uma câmara de pressão (PMS Instruments Co, Corvallis, Oregon, EUA), utilizando a metodologia descrita por SCHOLANDER et al. (1965). Algumas precauções sugeridas por TURNER (1981) foram tomadas para minimizar possíveis erros nas leituras.

As avaliações foram realizadas diàriamente, entre as 04:00 e 06:00 h (antes do alvorecer), período em que se obtém o máximo valor de potencial da água, em folhas de idades comparáveis. Assim, a avaliação da folha subtendida ao primeiro fruto do segundo ramo frutífero, foi

realizada tres dias depois da avaliação da folha subtendida ao primeiro fruto do primeiro ramo, e assim sucessivamente. O experimento foi conduzido até o momento em que não houve mais alteração do comprimento foliar, ou seja, quando a energia da água não foi mais suficiente para superar o módulo volumétrico de elasticidade.

Os pontos referentes à alteração do comprimento da folha, em mm, e relacionados com o potencial da água, foram definidos numa relação X:Y e ajustados por meio de uma função linear. A comparação das linhas de regressão das cultivares foi feita pelo método preconizado por NETER e WASSERMAN (1974).

3.3 - Entrada em déficit

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, em vasos de 5 l, contendo a mesma mistura descrita no experimento anterior. Foram utilizados 32 vasos para cada cultivar, nas condições de crescimento citadas no item 2. A interrupção da irrigação deu-se no início do florescimento, que coincidiu para as duas cultivares.

Diariamente, à medida que as plantas experimentaram menor disponibilidade de água, tres plantas de cada cultivar foram levadas para uma câmara de crescimento com ambiente controlado (Convicon). O fluxo de radiação fotossinteticamente ativa na altura do ápice das plantas foi de $550 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$, a temperatura do ar no interior da câmara foi de $26^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, e a umidade relativa do ar se manteve em aproximadamente 65%. Nestas condições, as plantas foram submetidas às seguintes avaliações:

3.3.1 - Trocas de CO₂ e temperaturas do ar e da folha.

Duas horas e trinta minutos após a transferência das plantas para a câmara climatizada, nas condições descritas acima, foram iniciadas as medidas das trocas gasosas na última folha verdadeira totalmente expandida.

As determinações foram realizadas com um sistema portátil de fotossíntese (LI-COR modelo LI-6200 e analisador de gas LI-6250), instalado no modo diferencial. Foi utilizada uma câmara com volume de um litro, e a área foliar analisada foi de 19 cm². O sistema foi programado para que as leituras fossem realizadas em 20 segundos.

As duas cultivares foram seguida e alternadamente avaliadas, pela determinação dos seguintes parâmetros: taxa de troca de carbono e temperaturas do ar e da folha. Após duas séries de leituras nas seis plantas, procedeu-se, imediatamente, às determinações descritas abaixo.

3.3.2 - Potencial da água na folha

O pecíolo da mesma folha analisada anteriormente foi seccionado com bisturi, e esta foi imediatamente acondicionada na câmara de pressão para avaliação do potencial da água. Após a medida, a folha foi imediatamente retirada da câmara para coleta de material a ser utilizado para outras determinações.

3.3.3 - Conteúdo relativo de água

De um dos lados da folha, junto à nervura principal, foram coletados 10 discos com 0.6 cm de diâmetro, os quais foram transferidos para frascos contendo 10 ml de uma solução de ácido ascórbico 2 mM e cianeto de potássio (KCN) 1 mM, para evitar oxidação de fenóis e inibir

a respiração, respectivamente. O frasco permaneceu em ambiente escuro por 6 h. Após este período, os discos foram retirados, cuidadosamente secos com papel de filtro, e levados para pesagem, com precisão de 0.001 g. Este foi considerado o Peso Túrgido (Pt).

Do outro lado da folha procedeu-se à coleta de outros 10 discos, que foram colocados em frascos previamente tarados, para determinação do Peso Fresco (Pf). Após esta pesagem, os discos foram levados para estufa a 70°C, até peso constante, para obtenção do Peso Seco (Ps).

De posse destes parâmetros, foi calculado o Conteúdo Relativo de Água (CRA), de acordo com Weatherley (1950), pela expressão:

$$CRA = \frac{Pf-Ps}{Pt-Ps} \times 100$$

3.3.4 - Atividade da enzima Redutase de Nitrato in vivo

Imediatamente após as determinações descritas acima, foram coletados 3 discos de 1,1 cm de diâmetro de cada lado da folha, os quais foram cortados em tiras de 1 mm de largura, por meio de um dispositivo contendo um conjunto de lâminas paralelas. O material foi transferido para frascos de 25 ml contendo 10 ml do meio de reação composto de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5, KNO₃ 0,03 M e 1-propanol a 1% (v/v), de acordo com o método descrito por RADIN (1974). As amostras foram então infiltradas a vácuo por dois períodos de 5' cada. Em seguida, o material foi incubado, no escuro, a 30°C, em banho-maria com agitação.

Após 60' de reação, alíquotas foram retiradas e transferidas para tubos de ensaio contendo 1 ml de sulfanilamida a 1% em HCl 1,5 M e 1 ml de N-1-naftil etileno diamino bicloridrato a 0.02%, num volume

total de 4 ml. Após decorridos 15', necessários para a estabilização da cor, a absorbância da solução foi lida a 540 nm, e o teor de nitrito calculado utilizando a curva padrão obtida com nitrito de sódio. O material vegetal foi seco em estufa e pesado, e a atividade da enzima foi expressa em $\mu\text{moles de NO}_2/\text{gMS h}$. Os pontos foram definidos numa relação X:Y e ajustados por meio de uma função cúbica (ZULLO, 1986). A comparação das linhas de regressão das cultivares foi feita pelo método preconizado por NETER e WASSERMAN (1974).

Imediatamente após a início da infiltração a vácuo descrita acima, o restante da folha foi dividida em duas partes iguais, para as determinações e operações mencionadas em 3.5 e 3.6.

3.3.5 - Avaliação do Potencial Osmótico

Uma das partes do tecido foliar foi acondicionado em um pequeno saco de plástico, devidamente vedado, e mergulhado em N_2 líquido, para provocar o rompimento das membranas celulares e eliminação do potencial de pressão. O material foliar permaneceu no N_2 líquido durante todo o período em que foram feitas as coletas do dia. Ao final da sessão diária de coleta, as amostras de tecido foram transferidas para um congelador, onde permaneceram estocadas.

De cada material, a seiva foi posteriormente extraída com um espremedor manual, para determinação da osmolalidade da solução utilizando um osmômetro FISKE OS' (Fiske Associates). O potencial osmótico foi calculado através da equação de Vant'Hoff

$$\text{potencial osmótico} = m.i.R.T,$$

onde m é a osmolalidade da solução, i é o seu equivalente químico, R é a constante universal dos gases, e T é a temperatura absoluta, em $^{\circ}\text{K}$.

3.3.6 - Extração de compostos orgânicos

A outra metade da folha foi acondicionada em frasco de vidro e imediatamente mergulhado em gelo fundente. Ao final da sessão diária de coleta, o material foi submetido à liofilização. Em seguida, os tecidos foram macerados em graal e levados para extração em MCW (metanol:clorofórmio:água, 12:5:3, v/v/v), utilizando o procedimento descrito por BIELESKY e TURNER (1966).

Num tubo de ensaio foram pesados 100 mg da folha macerada, e adicionados 10 ml da solução MCW. O tubo, completamente vedado, foi mantido em geladeira por 3 dias. Após centrifugação por 5' a 1200 rpm, o sobrenadante foi separado e o resíduo novamente extraído com 6 ml de MCW. Após nova centrifugação o resíduo foi guardado e os sobrenadantes juntados, e em seguida adicionados 4 ml de clorofórmio e 6 ml de água. Após remoção da clorofila por separação de fase, um volume da fase aquosa foi evaporada, ressuspensa em água e utilizada para análise de carboidratos, nitrato e aminoácidos livres totais (nestas análises, sempre que se referir à fração aquosa deve-se reportar a este volume evaporado e ressuspensa em água). A partir do resíduo, o amido foi extraído duas vezes com 5 ml de ácido perclórico a 30% (YEMM e WILLIS, 1954).

3.3.7 - Açúcares solúveis totais

As determinações utilizaram 1 ml da fração aquosa com adição de 2 ml de reagente antrona (100 mg de antrona em 2,5 ml de água destilada + 50 ml H₂SO₄ concentrado) (UMBREIT et al., 1957). Após agitação os tubos de ensaio foram vedados e aquecidos em banho-maria a 100°C, por 3'. Após resfriamento, a absorbância da solução foi lida a 660 nm, e o

teor de açúcares solúveis totais no tecido foliar foi calculado utilizando a curva padrão obtida com glicose.

3.3.8 - Açúcares redutores

As dosagens foram feitas com a fração aquosa, utilizando o método de NELSON (1944) e SOMOGYI (1952), que envolve a preparação prévia de dois reagentes: o reagente cúprico e a solução de Nelson.

Para a obtenção do reagente cúprico, foi preparada, inicialmente, a solução I, pelo processo descrito abaixo:

- dissolução de 24 g de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) e 12 g de tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) em 250 ml de água destilada, com adição, em seguida, de 16 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3);

- dissolução, em outro frasco, de 144 g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) em 400 ml de água destilada previamente aquecida, levando a ferver para eliminação do ar. Após esfriar, os dois preparados foram juntados, e o volume completado a 800 ml, filtrando a seguir.

Para a preparação da solução II foram misturados 4 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 36 g de sulfato de sódio, em um volume de 200 ml de água destilada.

Para a obtenção final do reagente cúprico as soluções I e II foram misturadas na proporção 4:1, somente antes de se proceder às análises.

A solução de Nelson foi preparada dissolvendo-se 25 g de molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$) em 450 ml de água destilada e adicionando 21 ml de ácido sulfúrico concentrado. A seguir, 3 g de arseniato de sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) foram dissolvidos em 25 ml de água

destilada, e adicionados à solução de molibdato de amônio. Após filtração, a solução final foi mantida por 2 dias a 37°C.

Para a dosagem dos açúcares redutores, 1 ml do reagente cúprico foi adicionado a 1 ml da fração aquosa. Após agitação e vedação, o tubo de ensaio foi aquecido a 100°C por 10'. Depois de resfriado, em água fria, foi adicionado 1 ml da solução de Nelson. Após a adição de 2 ml de água destilada, o tubo foi novamente agitado e a absorvância da solução foi lida em 560 nm. O teor de açúcares redutores no tecido foliar foi calculado utilizando a curva padrão obtida com glicose.

3.3.9 - Sacarose

Para a determinação dos teores de sacarose seguiu-se a metodologia descrita por HANDEL (1968). A uma alíquota de 0,5 ml da fração aquosa foi adicionado 0,5 ml de hidróxido de potássio (KOH) a 30%. Após agitação e vedação, a solução foi aquecida a 100°C por 10'. Depois de esfriar aplicou-se a mesma sequência descrita para a determinação dos açúcares solúveis totais. O teor de sacarose no tecido foliar foi calculado utilizando a curva padrão obtida com sacarose.

3.3.10 - Amido

Após realizadas as necessárias diluições da solução de ácido perclórico com o amido hidrolizado, a dosagem seguiu a metodologia descrita para a determinação dos açúcares solúveis totais.

3.3.11 - Nitrato

A determinação da concentração de nitrato nos tecidos da folha seguiu a metodologia desenvolvida por CATALDO et al. (1975). A uma alíquota de 0,1 ml da fração aquosa foi adicionado 0,4 ml do reagente

ácido salicílico a 5% em H_2SO_4 p/v. Após 20' em temperatura ambiente, foram acrescentados 9,5 ml de NaOH 2N, lentamente. Após o resfriamento, a absorvância da solução foi lida a 410 nm. O teor de nitrato no tecido foliar foi calculado utilizando a curva padrão obtida com nitrato de potássio.

3.3.12 - Aminoácidos livres totais

Os aminoácidos livres presentes na fração aquosa foram quantificados em folhas com potencias da água variando entre -0,9 e -2,4 MPa, retiradas de 6 plantas de cada cultivar. Inicialmente procedeu-se a uma determinação preliminar da quantidade dos aminoácidos livres, de acordo com a metodologia descrita por COCKING e YEMM (1954).

A um volume de 1 ml da amostra, foi adicionado 0,5 ml de tampão citrato 0,2 M, pH 5,0, 0,2 ml da solução de ninhidrina a 5% em metilcelusolve, e 1 ml de solução KCN (2 ml KCN 0.01 M + 98 ml metilcelusolve). Após agitação, o tubo foi vedado e levado para aquecer a 100°C por 20'. Depois de esfriar adicionou-se 1 ml de etanol a 60%. Após nova agitação a absorvância da solução foi lida em 570 nm, sendo que o teor de aminoácidos livres foi calculado utilizando a curva padrão obtida com leucina.

Esta quantificação inicial indicou o volume necessário de amostra para o procedimento seguinte, com utilização de cromatografia de fase reversa de alta resolução (HPLC), empregando derivativos de o-phthaldialdeido (OPA) (BENSON e HARE, 1975 e JARRETT et al., 1986), e derivativos de 9-fluorenilmetil cloroformato (FMOC-Cl) (EINERSSON et al., 1983).

Volumes de 10 a 15 μ l da fração aquosa (dependendo da quantificação obtida anteriormente) foram diluídos para 150 μ l de água

milli-Q. Da solução diluída foi retirada uma alíquota de 20 μ l, que foi adicionada a 60 μ l do reagente OPA (50 mg de OPA em 1 ml de metanol + 6,5 ml de tampão borato, pH 9,5). Pelo fato do derivativo ser instável, uma alíquota de 10 μ l foi injetada no HPLC após 2 minutos, exatamente. A análise foi realizada em coluna Superpac ODS-2 unida a um sistema LKB com 2 bombas (modelo 2150), controladas por um gerador de gradiente, modelo 2152.

A coluna foi eluída em fluxo de 1 ml por minuto, em temperatura ambiente, com um gradiente de 20-60% de metanol a 65% e tampão fosfato durante os primeiros 20 minutos, seguido de 60-75% de metanol a 65% entre os 20 e 25 minutos, e de 75-100% de metanol a 65% entre os 25 e 35 minutos. O efluente da coluna foi monitorado com um detector de fluorescência Shimadzu (modelo RF350), usando-se comprimentos de onda de excitação de 250 nm e de emissão de 480 nm. O registro foi feito através de um registrador/integrador LKB modelo 2221.

Considerando que o emprego do sistema de derivativos apresenta dificuldades na separação de alguns aminoácidos (MOSQUIM e SODEK, 1992), utilizou-se, também, o processo de separação e quantificação por meio de derivativos de FMOC-Cl.

Uma alíquota de 200 μ l da fração aquosa foi misturada com 50 μ l de tampão borato, pH 6,3, e 250 μ l de FMOC-Cl 15 mM em acetona. Após 30 segundos foi adicionado 1 ml de pentano. Após imediata agitação, a fase superior foi removida com pipeta Pasteur. O processo de extração utilizando o pentano foi repetido mais duas vezes.

Após diluir uma alíquota da amostra 5 vezes com água milli-Q, 10 μ l da amostra foram injetados no HPLC, usando a coluna e fluxo de diluição citados anteriormente. O gradiente foi de 45-65% de metanol e

tampão durante os primeiros 25 minutos, seguido de 65-85% de metanol entre os 25 e 40 minutos. O tampão foi preparado com 8 ml de ácido acético e 1 ml de trietilamina em 1 l de água milli-Q, com o pH ajustado para 4,0 com NaOH 1 N. Na detecção de fluorescência o comprimento de onda de excitação foi 263 nm, e o de emissão de 313 nm.

Nos dois sistemas foram usados como padrão 20 μ l de uma solução contendo todos os aminoácidos na concentração de 5 mM. A concentração de cada um dos aminoácidos foi expresso em μ mol/gMS e em percentagem do total.

3.4 - Estudo das relações hídricas através de curvas pressão-volume

Para a obtenção das curvas pressão-volume e a consequente estimativa dos parâmetros determinantes das relações hídricas em folhas de plantas estressadas e normalmente irrigadas, foi adotada a metodologia proposta por WENKERT (1980).

As plantas foram cultivadas em vasos de 5 l, nas mesmas condições citadas anteriormente, e as determinações efetuadas durante o estágio de máximo florescimento,

Foram definidos os seguintes tratamentos:

- A) IAC 13-1 - controle (plantas continuamente irrigadas);
- B) IAC 13-1 - estressada (plantas submetidas a déficit hídrico);
- C) IAC 20 - controle;
- D) IAC 20 - estressada.

Foi coletada a última folha verdadeira totalmente expandida através do corte do pecíolo com um bisturi, a 1 cm da inserção com o

ramo, utilizando tres plantas de cada tratamento. O pecíolo foi imediatamente mergulhado num recipiente com água, e procedeu-se a um novo corte, 2 cm acima da incisão inicial. Ainda submerso, o pecíolo foi colocado num recipiente de 500 ml, permanecendo até a manhã seguinte em ambiente escuro para a total reidratação da folha.

Folhas de plantas estressadas comparáveis àquelas utilizadas para a obtenção das curvas pressão-volume, apresentaram potencial da água em tôrno de $-2,2$ MPa.

Após o período de reidratação, as folhas foram submetidas aos procedimentos descritos a seguir. Uma das folhas (folha 1) do tratamento A foi retirada do frasco e teve o pecíolo cuidadosamente seco; este foi introduzido em um suporte de borracha da câmara de pressão, previamente tarado, e levados para pesagem com precisão de $0,001$ g (o pecíolo permaneceu introduzido neste suporte durante todo o tempo do experimento). O peso inicial da folha foi denominado Peso Túrgido (Pt). Em seguida procedeu-se à avaliação do potencial da água desta folha. Essa mesma sequência foi aplicada à "folha 1" dos outros tratamentos.

Antes de passar para as "folhas 2", a sequência acima foi repetida nas "folhas 1". Em seguida, a mesma sequência foi aplicada nas "folhas 2". Depois das duas séries de leituras nas "folhas 2" procedeu-se a mais uma leitura nas "folhas 1". A seguir, foram feitas as duas primeiras séries de leituras nas "folhas 3", seguidas de uma série nas "folhas 2", e novamente mais uma série nas "folhas 3". A partir daí as avaliações foram conduzidas numa sequência normal, até que os valores do potencial da água estivessem próximos de $-2,5$ MPa.

Excetuando-se as primeiras pesagens de cada folha, todas as outras foram consideradas como Peso Fresco (Pf).

Ao final as folhas foram levadas para estufa à 70°C , onde

permaneceram até peso constante, para obtenção do Peso Seco (Ps).

De posse de Pt, Pf e Ps foram calculados os valores de Conteúdo Relativo de Água (CRA), conforme descrito no item 3.3.

A obtenção das Curvas Pressão-Volume seguiu a metodologia descrita por SCHOLANDER et al. (1965), e possibilitou a avaliação dos seguintes parâmetros: i) "Potencial osmótico em máxima turgescência", estimado ao prolongar-se a reta ajustada aos pontos da porção linear da curva pressão-volume; ii) "Potencial osmótico em turgescência zero", que é o ponto inicial desta porção linear, e iii) "Módulo volumétrico de elasticidade", E , estimado através de

$$E = (dP/dCRA) * CRA \text{ máximo.}$$

Estes parâmetros foram comparados a fim de avaliar o grau de ajustamento osmótico alcançado em cada tratamento, para cada cultivar (JONES e TURNER, 1980).

3.5 - Recuperação da turgescência

Plantas das duas cultivares foram cultivadas em vasos com areia, com capacidade de 1 litro, mantidos em casa de vegetação e irrigadas periodicamente. Quando as plantas encontravam-se no estágio de cinco folhas (próximo do início de formação do primeiro botão floral), a irrigação foi interrompida para estabelecimento do estresse hídrico. Quando o potencial da água nas folhas se aproximou de -2,4 MPa as plantas foram transferidas para a câmara de crescimento, para serem irrigadas e avaliadas na recuperação da turgescência.

3.5.1 - Potencial da água na planta

Imediatamente antes da irrigação, o caule de uma planta de cada cultivar foi excisado na região acima dos cotilédones, para avaliação do potencial da água na planta pelo método da câmara de pressão. Durante o processo de recuperação da turgescência, as determinações do potencial da água foram feitas em intervalos de 5 minutos, alternadamente por cultivar. Os pontos foram definidos numa relação X:Y e ajustados por meio de uma função polinomial assimétrica (PEREIRA e ARRUDA, 1987). A comparação das linhas de regressão das cultivares foi feita pelo método preconizado por NETER e WASSERMAN (1974).

3.5.2 - Atividade da enzima Redutase de Nitrato, *in vivo*

A estimativa da atividade da enzima Redutase de Nitrato, *in vivo*, em folhas de plantas deficientes e supridas com NO_3 , foi obtida utilizando um lote de plantas irrigadas com água, enquanto que num outro lote as plantas foram irrigadas com uma solução de Salitre do Chile, 50 mM.

Momentos antes da irrigação as folhas de uma planta de cada cultivar foram coletadas para estimativa da atividade enzimática. De cada folha foram coletados 2 discos com 1,1 cm de diâmetro e procedeu-se, então, à mesma sequência de etapas descritas no item 3.4. Outras avaliações foram realizadas aos 30, 60, 120 e 240 minutos, durante o período de recuperação da turgescência.

3.5.3 - Avaliações de trocas gasosas

As avaliações das taxas de fotossíntese líquida e de resistên-

cia estomática foram realizadas usando o sistema portátil de fotossíntese descrito anteriormente (item 3.1). A área foliar analisada foi de 12 cm².

Os pontos obtidos foram ajustados utilizando uma função polinomial assimétrica, e as curvas foram comparadas de acordo com NETER e WASSERMAN (1974).

A área foliar foi calculada com um medidor automático modelo LI-3000, e a taxa de transpiração foi estimada pelo método da pesagem dos vasos.

3.6 - Exportação de assimilados

As plantas foram cultivadas em recipientes metálicos com 18 litros de capacidade, com a mesma mistura descrita no item 2. Foram utilizadas 15 plantas para cada cultivar, mantidas em casa de vegetação e conduzidas conforme descrito no item 2. As seis plantas mais homogêneas de cada cultivar foram selecionadas, adotando-se os critérios de uniformidade de porte e de estágio de desenvolvimento.

Cinco dias após o florescimento da primeira estrutura do quinto ramo frutífero, foi interrompido o suprimento de água em 3 vasos de cada cultivar. Cinco dias depois procedeu-se à avaliação da taxa de exportação de assimilados em outras 6 plantas, 3 de cada cultivar, mantidas sob irrigação normal, através do método descrito por KALT-TORRES et al. (1987).

Os vasos foram retirados da casa de vegetação e permaneceram ao ar livre para que as plantas não sofressem qualquer sombreamento durante o período de tomada de leituras. Durante as medidas, foram

poucos os momentos de nebulosidade, e a irradiância permaneceu sempre alta.

As folhas analisadas em cada planta foram aquelas subtendidas ao segundo fruto do quinto ramo e primeiro fruto do sétimo ramo [folhas (fonte) e frutos (dreno) com as mesmas idades].

3.6.1 - Calculo da Taxa de assimilação líquida

As taxas de troca de CO_2 foram obtidas utilizando um sistema de medida de fotossíntese descrito anteriormente (item 3.1). As avaliações foram realizadas nas 6 plantas, entre as 09:00 e 18:00 h, alternadamente por cultivar e ininterruptamente. As medições foram feitas sempre em uma das metades da folha.

Os valores obtidos, expressos em " $\text{mg CO}_2/\text{dm}^2 \text{ h}$ ", foram convertidos em " $\text{mg CH}_2\text{O}/\text{dm}^2 \text{ h}$ " quando multiplicados por 0.68 (razão molar das duas formas de C). Através da integração da área limitada pela união dos pontos representativos dos valores de fotossíntese, em intervalos de 3 horas, foi estimada a assimilação líquida de carbono para cada cultivar, em cada período.

O sistema também forneceu as seguintes informações: resistência estomática, transpiração, concentração intracelular de CO_2 e temperaturas da folha e do ar.

3.6.2 - Variação do conteúdo de açúcares na folha

A partir das 09:00 h, e a cada 3 horas, foram coletados 3 discos de 1,1 cm de diâmetro de cada uma das duas folhas analisadas nas plantas. A coleta dos discos foi realizada na outra metade da folha onde foi medida a taxa de troca de CO_2 . Após a liofilização, os discos foram

macerados e extraídos em MCW para determinação dos teores de açúcares redutores, sacarose, açúcares solúveis totais e amido.

3.6.3 - Calculo da Taxa de exportação de assimilados

A taxa de exportação de assimilados foi calculada pela diferença entre a assimilação líquida de carbono durante um período de 3 horas e a variação do conteúdo de carboidratos não-estruturais (soma das concentrações de amido, sacarose e açúcares redutores) no referido intervalo, por unidade de área foliar (KOSHKIN e TRETIAKOV, 1990).

No dia seguinte, os passos descritos acima foram aplicados nas seis plantas cuja irrigação havia sido cortada anteriormente, e que apresentavam um adequado estado de déficit de água.

4 - RESULTADOS

4.1 - Caracterização do sistema radicular

Os resultados mostrados nas tabelas 1 e 2 incluem os pesos médios da matéria seca e as porcentagens de raízes de 3 plantas, representando a distribuição do sistema radicular nos vários horizontes do solo. As raízes foram coletadas nas fases de início de formação dos botões florais (Tabela 1) e de máximo florescimento (Tabela 2).

Nas análises da primeira amostragem foram consideradas apenas as raízes secundárias e, na segunda, as secundárias e as terciárias, pois as primárias não apresentam outra função senão a de sustentação.

Os dados obtidos na primeira amostragem parecem mostrar que a distribuição do sistema radicular da cultivar IAC 20 é mais superficial, com cerca de 78% das raízes concentradas nos 50 cm de profundidade, comparado com 71% da cultivar IAC 13-1. Nota-se que a porcentagem acumulada obtida numa determinada camada para a IAC 20, na IAC 13-1 ocorre somente na camada inferior. Por outro lado, as raízes da cultivar IAC 13-1 atingiram maior profundidade que a IAC 20, 120 cm e 110 cm, respectivamente.

Na segunda amostragem observa-se uma diferença, entre as variedades, em torno de 5% na concentração de raízes médias acumuladas nos 50 cm de profundidade, com a cultivar IAC 20 apresentando a maior quantidade (Tabela-2a).

O exame dos dados da tabela 2-b mostra não haver diferença na concentração de raízes terciárias entre as variedades. Cerca de 65 % das raízes da cultivar IAC 20 concentram-se nos 50 cm de profundidade, comparado com 63 % da IAC 13-1. A exemplo da coleta anterior, a porcentagem acumulada em uma dada camada, na IAC 20, é sempre obtida na camada

Tabela 1 - Pêsos médios da matéria seca, em g, porcentagens e porcentagens acumuladas de raízes de 3 plantas das variedades IAC 13-1 e IAC 20, nos vários horizontes do solo, da coleta realizada na fase de início de formação de botão floral.

cm	----- IAC 13-1 -----			----- IAC 20 -----		
	g	%	% acum	g	%	% acum
10	0,165	10,7	10,7	0,213	15,4	15,4
20	0,427	27,7	38,4	0,436	31,5	46,8
30	0,241	15,7	54,1	0,204	14,8	61,6
40	0,136	8,8	62,9	0,124	9,0	70,6
50	0,120	7,8	70,7	0,105	7,6	78,2
60	0,124	8,1	78,8	0,091	6,6	84,8
70	0,121	7,9	86,8	0,109	7,9	92,7
80	0,092	6,0	92,8	0,065	4,7	97,4
90	0,071	4,6	97,4	0,020	1,5	98,9
100	0,021	1,4	98,8	0,010	0,7	99,6
110	0,014	1,0	99,7	0,004	0,3	100
120	0,003	0,2	100			
total	1,540			1,384		

Tabela 2 - Pesos médios da matéria seca, em g, porcentagens e porcentagens acumuladas de raízes secundárias (a) e terciárias (b) de 3 plantas das variedades IAC 13-1 e IAC 20, nos vários horizontes do solo, da coleta realizada na fase de máximo florescimento.

(a)	IAC 13-1				IAC 20		
	cm	g	%	% acum	g	%	% acum
	10	0,660	16,2	16,2	1,192	28,3	28,2
	20	1,844	45,3	61,4	1,533	36,3	64,5
	30	0,652	16,0	77,4	0,762	18,1	82,6
	40	0,282	6,9	84,4	0,309	7,3	89,9
	50	0,197	4,8	89,2	0,190	4,5	94,4
	60	0,221	5,4	94,6	0,119	2,8	97,3
	70	0,116	2,8	97,5	0,060	1,4	98,7
	80	0,072	1,8	99,2	0,028	0,7	99,4
	90	0,018	0,4	99,7	0,024	0,6	100
	100	0,007	0,2	99,9			
	110	0,004	0,1	100			
	total	4,073			4,22		
(b)	10	0,562	18,1	18,0	0,621	19,1	19,1
	20	0,603	19,4	37,4	0,705	21,7	40,8
	30	0,485	15,6	53,1	0,505	15,6	56,4
	40	0,147	4,7	57,8	0,120	3,7	60,1
	50	0,185	6,0	63,7	0,169	5,2	65,3
	60	0,185	6,0	69,7	0,317	9,8	75,1
	70	0,253	8,1	77,8	0,334	10,3	85,4
	80	0,205	6,6	84,4	0,173	5,3	90,7
	90	0,232	7,5	91,9	0,110	3,4	94,1
	100	0,105	3,4	95,3	0,080	2,5	96,6
	110	0,063	2,0	97,3	0,055	1,7	98,3
	120	0,038	1,2	98,5	0,030	0,9	99,2
	130	0,026	0,8	99,4	0,020	0,6	99,8
	140	0,006	0,2	99,6	0,003	0,1	100
	150	0,007	0,2	99,8			
	160	0,005	0,2	100			
	total	3,107			3,246		

inferior na IAC 13-1. As raízes desta última cultivar novamente atingiram maior profundidade, cerca de 160 cm, enquanto as raízes da IAC 20 atingiram 140 cm.

4.2 - Expansão foliar

O tempo transcorrido entre a interrupção do suprimento de água para as plantas e a paralisação do crescimento foliar, foi de 12 dias. Foram obtidos 119 e 137 pares de dados para as variedades IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente.

As alterações do comprimento da folha, em mm, obtidos nos diferentes potenciais da água (Ψ_a) nas folhas medidos antes do alvorecer, são mostrados na figura 1. Observa-se que na figura não estão contemplados os valores de crescimento zero.

A figura 1 indica que o crescimento foliar apresenta um comportamento não linear em resposta ao Ψ_a . No entanto, o ajustamento dos pontos utilizando funções não-lineares (função cúbica, exponencial ou polinomial assimétrica) não possibilitou estimar em que Ψ_a o crescimento foliar foi paralisado, pois as linhas de regressão não interceptaram a abscissa em nenhum dos casos.

Assim, os pontos representativos de cada cultivar foram ajustados por meio de uma regressão linear, e o teste de comparação das linhas indicou não haver diferenças significativas entre os materiais estudados.

As intersecções das linhas de regressão com a abscissa estimam os Ψ_a em que o crescimento foliar foi totalmente paralisado. Os valores obtidos foram -1,04 e -0,98 MPa, para as variedades IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente.

Figura 1 - Alterações do comprimento da folha, em mm, nos diferentes potenciais da água na folha antes do alvorecer, em -MPa, para as cultivares de algodoeiro IAC 13-1 e IAC 20. As linhas referem-se ao ajustamento de uma regressão linear.

Ao final do experimento, em algumas plantas nas quais foi observada a paralisação do crescimento foliar, procedeu-se à leitura do potencial da água em folhas próximas, entre as 11:00 e 12:00 h, e os valores situaram-se entre -1,5 e -1,6 MPa.

4.3 - *Entrada em déficit*

Experimentos preliminares mostraram que plantas de algodoeiro com área foliar de aproximadamente 2000 cm², transpiraram cerca de 500 ml de água por dia, e que ao final de 6 dias as plantas atingiram valores de potencial da água na folha em torno de -2,5 MPa. A fim de estender por mais alguns dias o período para estabelecimento da deficiência hídrica, procedeu-se, a cada dia, à reposição de cerca de 50% da água perdida por evapo-transpiração, estimada pela pesagem dos vasos com as plantas. Assim, foi possível conduzir o experimento durante 10 dias.

Os valores das taxas de fotossíntese líquida (TFL) obtidos em diferentes Ψ_a na folha, para cada cultivar, são mostrados na figura 2. Os pontos foram ajustados por meio de uma função cúbica, e o teste de comparação das curvas indicou uma diferença significativa entre as duas variedades.

Os resultados indicam que as TFL obtidas para a cultivar IAC 20 foram cerca de 10% superiores aos da IAC 13-1, com valores de 1,05 e 0,95 g CH₂O/m²h, respectivamente. Entre -1,0 e -1,8 MPa, uma determinada TFL é observada para a IAC 20 com um potencial da água menor em 0,2 MPa do que aquele observado para a IAC 13-1. Nota-se que, em Ψ_a de até -1,8 MPa, as duas variedades ainda apresentaram alguma atividade fotossintética.

Figura 2 - Variação da taxa de fotossíntese líquida (TFL), em g CH₂O/m²h, em diferentes potenciais da água na folha, em -MPa, para as cultivares IAC 13-1 e IAC 20. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função cúbica.

Figura 3 - Variação da taxa de fotossíntese líquida (TFL), em g CH₂O/m²h, em diferentes conteúdos relativos de água, para cada cultivar. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função cúbica.

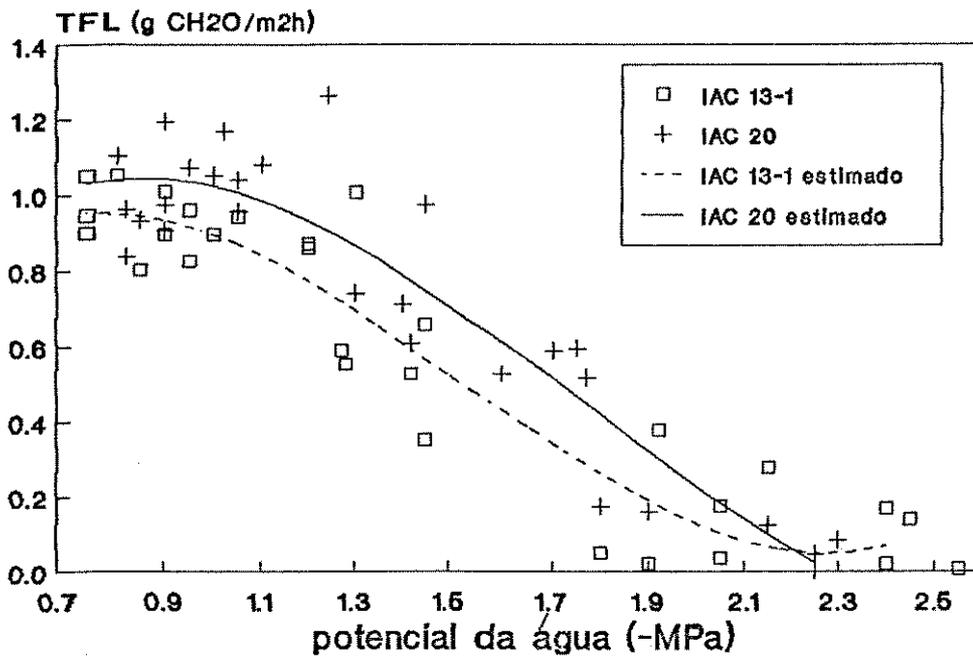


figura 2

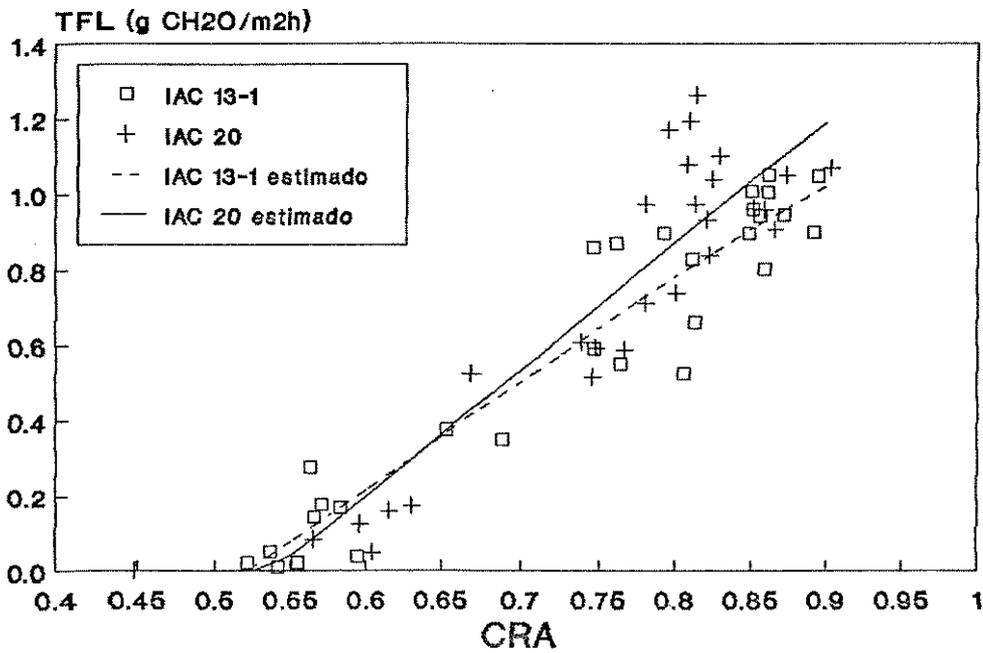


figura 3

Em Ψ_a de até -1.0 MPa a TFL permaneceu estável para as duas variedades, com queda linear entre -1,1 e -2,0 MPa. Em valores de Ψ_a inferiores a -2.0 MPa, as TFL foram reduzidas a cerca de 20% dos níveis iniciais.

As TFL obtidas em função do conteúdo relativo de água na folha (CRA) também foram ajustadas, e a comparação das linhas de regressão indicou não haver diferenças entre as variedades. Os resultados indicaram um decréscimo linear das TFL, no intervalo de CRA estudado (figura 3).

As respostas da TFL a diferentes temperaturas da folha (figura 4-a), e em função das diferenças entre as temperaturas do ar e da folha (figura 4-b), foram estudadas utilizando as Curvas de Arrhenius, que são indicativas das alterações conformacionais e funcionais das estruturas supra moleculares das células, influenciadas pela imposição do estresse.

A análise dos resultados das transformações de Arrhenius aplicadas aos valores de TFL mostrou que o processo de assimilação de CO_2 sofreu modificações funcionais quando a temperatura da folha atingiu 25°C (figura 4-a). Na figura 4-b pode ser observado que alterações termo-dinâmicas no sistema ocorreram quando a diferença entre as temperaturas da folha e do ar foi de aproximadamente 0°C .

Os resultados mostrados na figura 5 indicam a existência de uma relação exponencial entre os valores de atividade da redutase de nitrato (ARN) e o potencial da água da folha. A redução na ARN ocorreu na faixa de Ψ_a de -0.7 a aproximadamente -1.4 MPa. Valores de Ψ_a abaixo de -1.5 MPa causaram inibição praticamente total da ARN, nas duas variedades.

Comportamento semelhante foi observado quando o CRA foi utili-

Figura 4 - Alterações da taxa de fotossíntese líquida (TFL), expressa em \ln , em diferentes temperaturas da folha, expressas em $1/^\circ\text{K}$ (figura 4-a), e em função das diferenças entre as temperaturas do ar e da folha das duas cultivares de algodoeiro (figura 4-b).

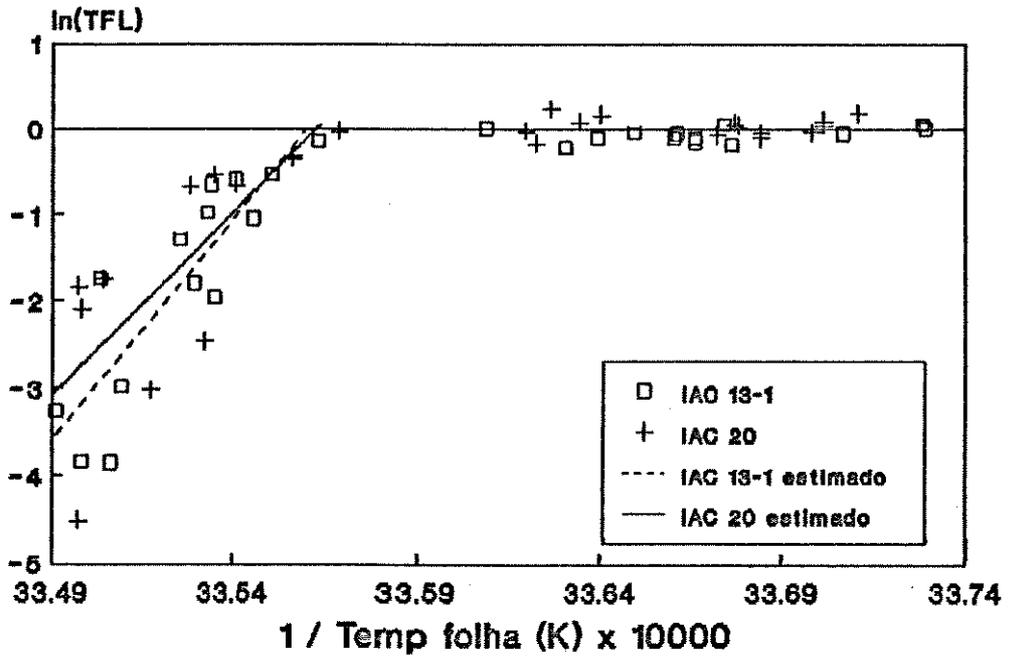


figura 4-A

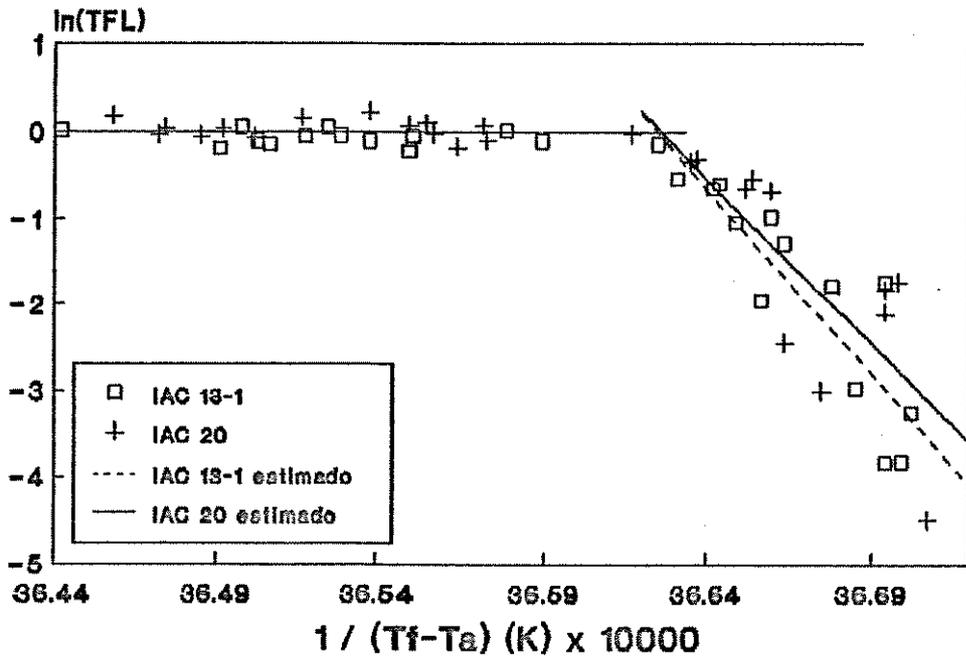


figura 4-B

Figura 5 - Alterações da atividade da enzima redutase de nitrato (ARN), em $\mu\text{moles NO}_2/\text{gMS h}$, em diferentes potenciais da água na folha, em -MPa, para cada cultivar. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função cúbica.

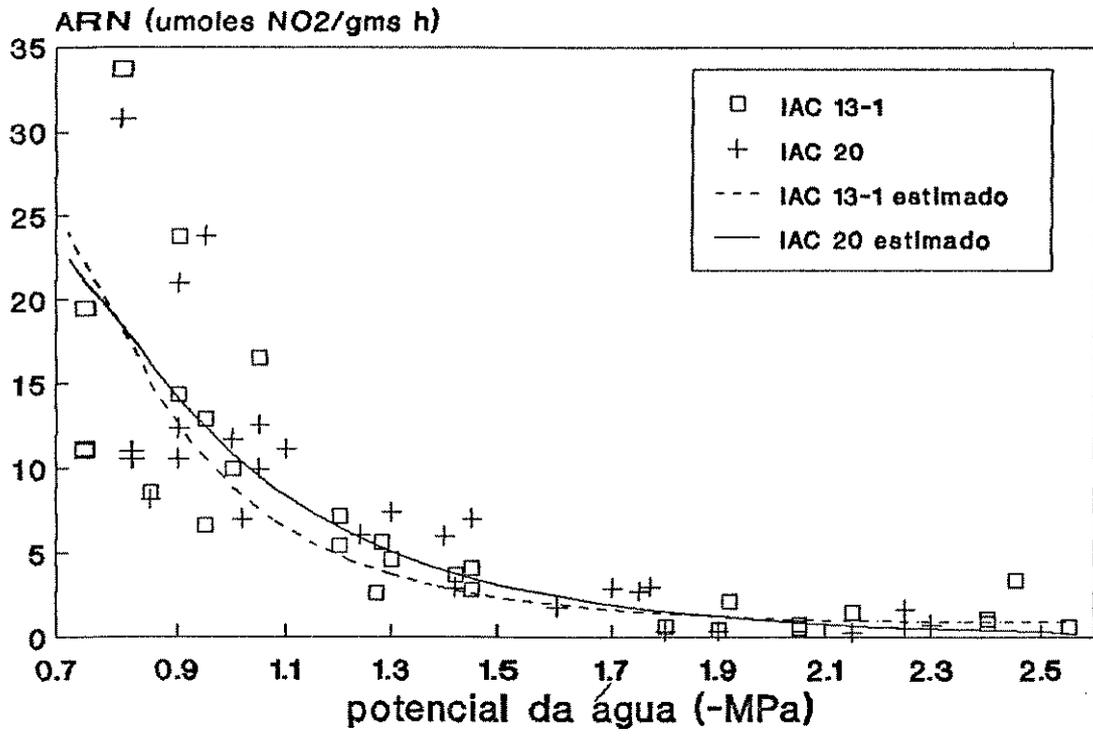


figura 5

zado como parâmetro indicativo dos níveis de deficiência hídrica impostos durante o experimento. A atividade cai a zero em valores de CRA em torno de 65 %.

As relações existentes entre a ARN e as temperaturas da folha e do ar foram analisadas utilizando as transformações de Arrhenius (figura 6). Com relação à temperatura da folha, a brusca alteração do padrão de atividade enzimática ocorreu a aproximadamente 25°C (25.08 e 24.97°C para a IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente), semelhante ao valor obtido pela medida da TFL (figura 6-a). Com respeito às diferenças entre as temperaturas da folha e do ar observou-se, também, que a mudança da inclinação da curva de atividade enzimática deu-se quando estas foram 0.14 e 0.12°C, respectivamente para as duas variedades (figura 6-b).

Os resultados das determinações do potencial osmótico (Ψ_s) das folhas sob diferentes níveis de Ψ_a , indicam que a folha atingiu o estado de potencial de pressão (Ψ_p) igual a zero em Ψ_a entre -1,4 e -1,5 MPa, pois neste ponto o Ψ_a da folha igualou-se ao Ψ_s (figura 7). Na folha, valores de Ψ_a abaixo de -1.5 MPa indicam que as células devem ter entrado em plasmólise, pois observa-se valores de Ψ_a menores que Ψ_s . A comparação entre as linhas estatisticamente ajustadas mostrou não haver diferença significativa entre as duas variedades.

Os resultados das análises bioquímicas no tecido foliar durante o período de entrada em déficit são mostrados na figura 8. As determinações das concentrações de amido podem ser observadas na figura 8-a. Nota-se uma sensível diminuição nas concentrações em Ψ_a entre -0.7 e -1.4 MPa, com pequena variação abaixo deste potencial. Parte do amido acumulado na folha pode ter contribuído para o aumento da concentração de açúcares redutores, conforme verificado na figura 8-b.

Figura 6 - Alterações da atividade da enzima redutase de nitrato (ARN), expressa em ln, em diferentes temperaturas da folha das duas cultivares, expressas em $1/^{\circ}\text{K}$ (figura 6-a), e em função das diferenças entre as temperaturas do ar e da folha das cultivares IAC 13-1 e IAC 20 (figura 6-b).

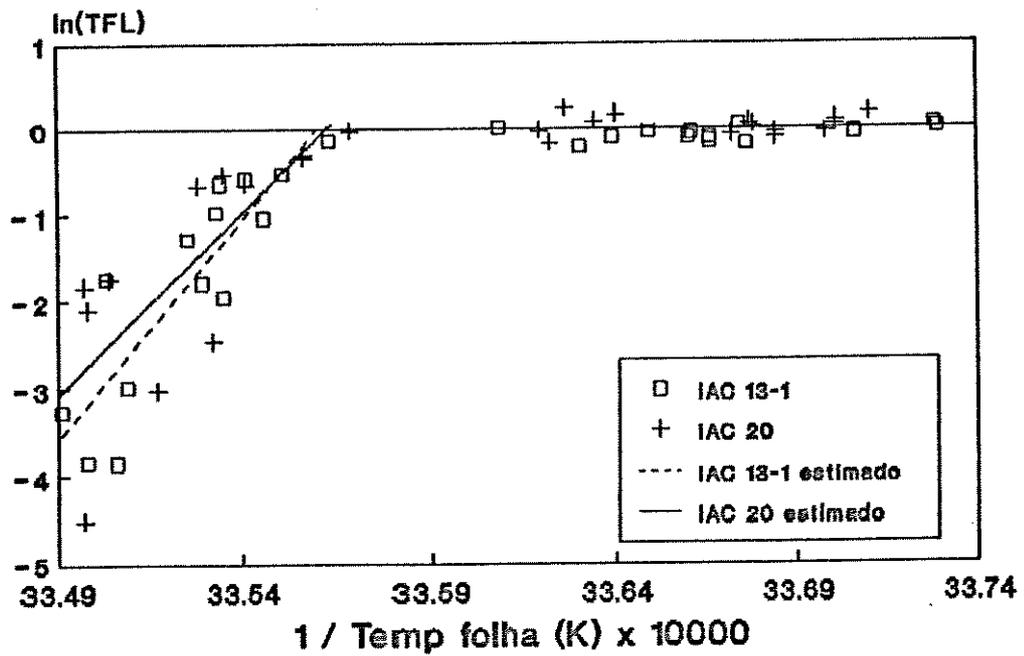


figura 4-A

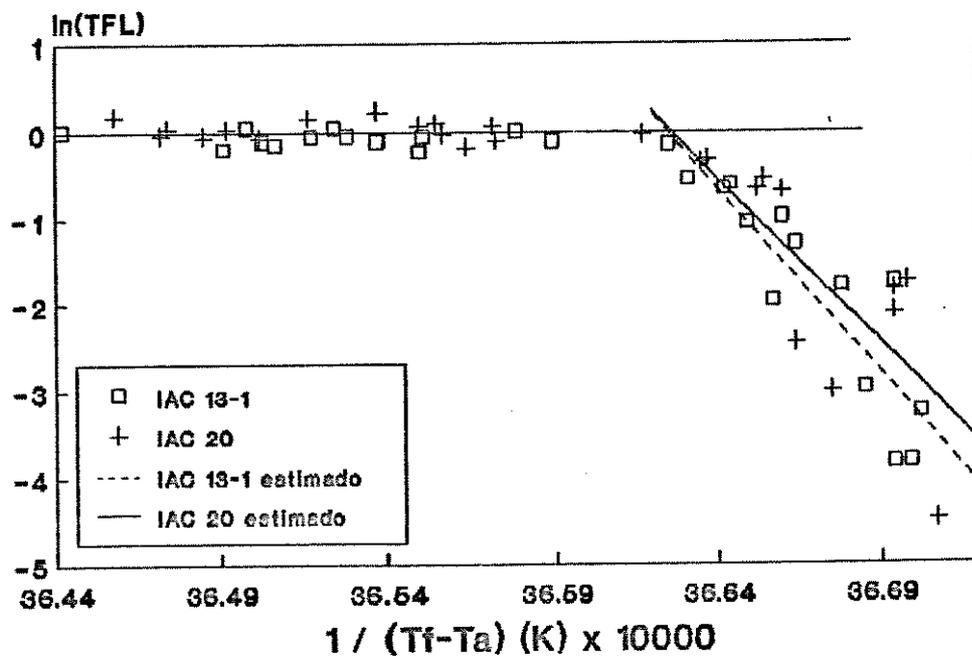


figura 4-B

Figura 7 - Variação do potencial osmótico (Ψ_s), em -MPa, em diferentes potenciais da água na folha, em -MPa, para as duas cultivares de algodoeiro. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função cúbica.

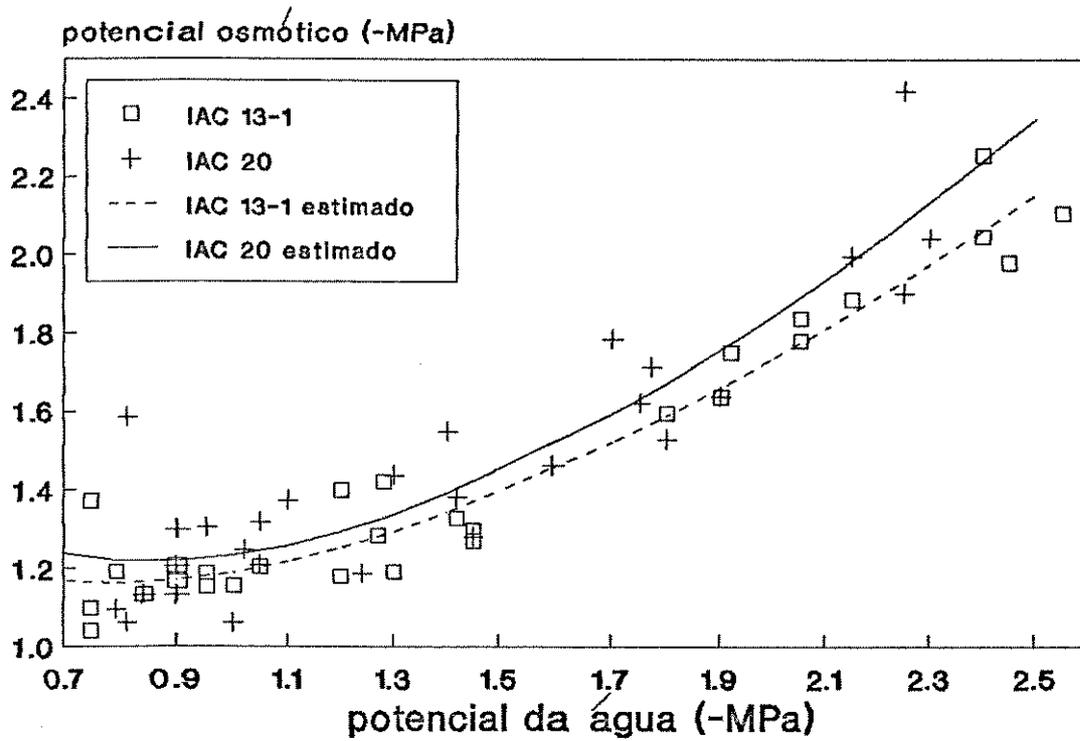


figura 7

Figura 8 - Concentrações de amido (fig. 8-a), açúcares redutores (fig. 8-b), sacarose (fig. 8-c) e de açúcares solúveis totais (fig. 8-d), em mg/gMS, em diferentes potenciais da água na folha, em -MPa, para as duas cultivares. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função polinomial assimétrica.

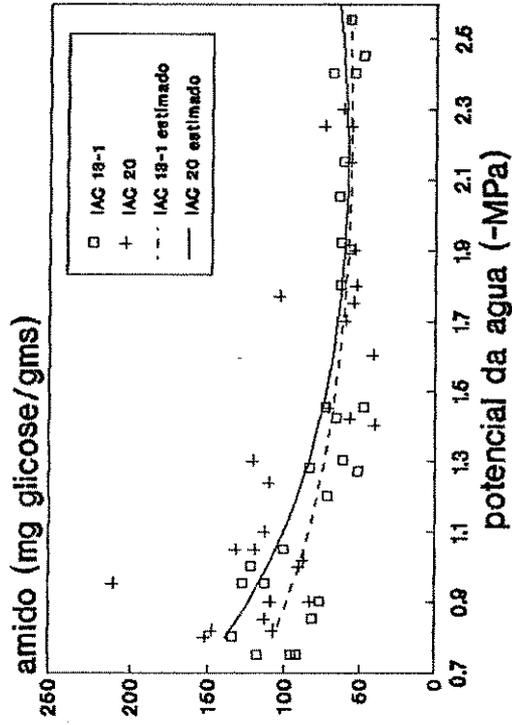


figura 8-A

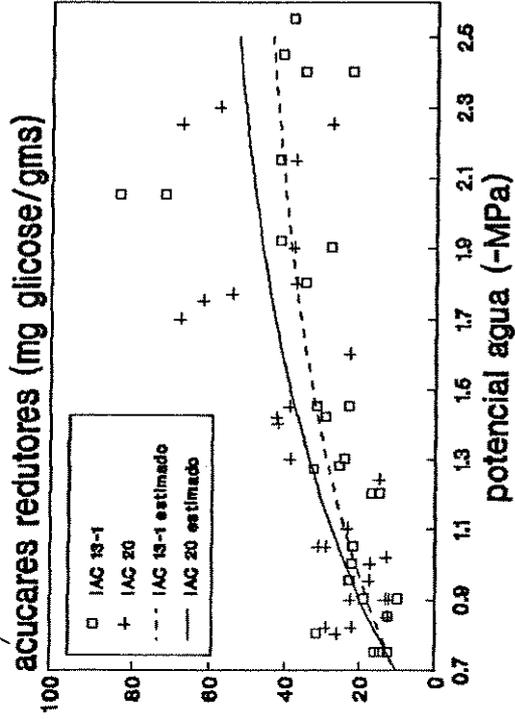


figura 8-B

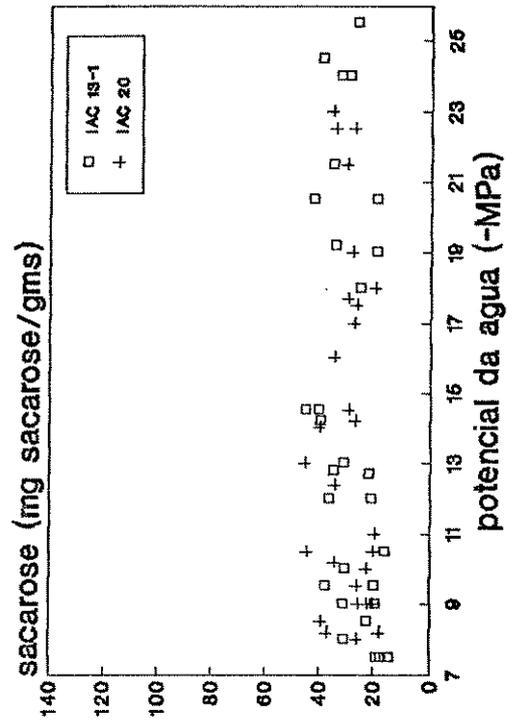


figura 8-C

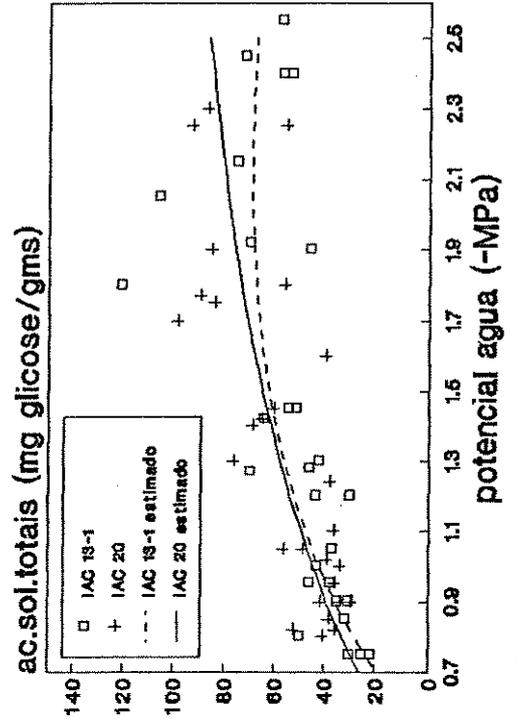


figura 8-D

Foi observado um incremento de 3 vezes na concentração destes açúcares, entre valores de Ψ_a de -0,7 a -1.4 MPa, e um pequeno aumento abaixo deste nível até -2.5 MPa.

As concentrações de sacarose praticamente não se alteraram, com os valores mantendo-se entre 15 e 45 mg/gMS. As concentrações de açúcares solúveis totais apresentaram um padrão de resposta ao Ψ_a semelhante àquele encontrado para os açúcares redutores (figura 8-d).

Os teores dos aminoácidos livres obtidos em diferentes potenciais da água na folha, para cada cultivar, são mostrados na tabela 3.

Para facilitar a análise, os aminoácidos que apresentam maiores alterações de concentração em resposta ao déficit, são mostrados na figura 9, como percentagem do referido aminoácido em relação ao total, nos diferentes potenciais da água.

Na figura 9-a observa-se o comportamento do ácido glutâmico. A medida que o estresse hídrico se estabelece, nota-se a manutenção dos níveis iniciais deste aminoácido em Ψ_a próximos de -1.5 MPa, e uma acentuada queda em potenciais menores.

A isoleucina apresenta valores muito baixos em Ψ_a próximos a -1.5 MPa, e um aumento nos teores em Ψ_a menores (figura 9-b). Este comportamento também é observado para a metionina (figura 9-c) e valina (figura 9-d).

As maiores alterações são observadas com prolina, que apresenta teores estáveis e baixos em Ψ_a de até -1.5 MPa. Em Ψ_a próximos de -1.8 MPa os níveis já são 5 vezes maiores, chegando a valores 15 vezes maiores do que os iniciais em Ψ_a de -2.3 MPa (figura 9-e).

Tabela 3 - Teores dos aminoácidos livres, em $\mu\text{moles/gms}$, nas duas variedades, submetidas a diferentes potenciais da água na folha.

IAC 13-1						
	-0.9	-0.9	-1.45	-1.8	-2.4	-2.45 (MPa)
ASP	3,541	5,777	3,801	4,409	3,374	3,216
GLU	7,747	7,199	9,544	5,500	5,352	6,831
ASN	6,016	0,924	1,122	3,710	6,946	2,298
SER	4,832	3,654	2,743	3,452	3,825	3,348
GLN	12,979	3,929	2,458	3,512	6,274	4,152
HIS				0,507	0,772	
GLY	1,870	2,800	1,745	1,749	1,786	1,922
THR	0,895	1,213	1,366	1,926	1,531	2,036
ARG	2,582			0,597	0,606	
ALA	8,536	15,667	12,081	8,093	7,105	13,444
TYR	1,016	3,478	2,953	3,927	3,005	3,077
GABA	4,964	7,576	7,303	17,115	12,708	9,842
MET				2,150	4,340	2,331
VAL	0,613	0,571	0,773	3,664	4,339	2,869
PHE			0,385	1,797	2,285	0,871
ILE			0,406	2,577	2,468	1,603
PRO	0,722	0,769	0,808	4,902	14,393	3,681
LEU	0,659	0,846	0,806	1,365	1,298	1,171
LYS	4,374	13,540	9,924	8,274	13,097	5,962
IAC 20						
	-0.95	-0.9	-1.4	-1.77	-2.25	-2.3 (MPa)
ASP	4,711	3,659	2,305	5,309	2,220	3,054
GLU	8,392	8,221	7,026	15,082	4,035	6,768
ASN	2,127	1,063	1,129	2,702	9,160	6,290
SER	4,043	3,845	5,504	5,271	4,694	3,891
GLN	8,187	4,614	2,760	6,008	2,521	3,795
HIS	1,977			0,840	0,589	
GLY	3,258	2,008	3,011	2,835	1,684	1,431
THR	1,001	1,235	1,776	1,860	1,787	2,054
ARG	0,637				0,700	
ALA	12,122	18,089	18,600	10,999	10,172	8,258
TYR	1,288	3,311	4,212	3,024	2,919	4,001
GABA	6,723	8,315	12,475	11,388	12,345	16,009
MET	1,092			1,805	2,841	2,451
VAL	0,615	0,676	0,619	3,385	4,965	5,064
PHE	0,340	0,354	0,343	0,832	2,060	1,765
ILE			0,370	1,918	2,297	2,671
PRO	0,984	0,895	1,117	4,269	13,982	12,140
LEU	1,459	0,674	0,687	1,030	1,574	1,404
LYS	5,923	11,588	4,357	7,505	12,723	12,581

Figura 9 - Concentrações dos aminoácidos glutamina (fig. 9-a), isoleucina (fig. 9-b), metionina (fig. 9-c), valina (fig. 9-d) e prolina (fig. 9-e), em %, em diferentes potenciais da água na folha, em -MPa, para as duas cultivares de algodoeiro.

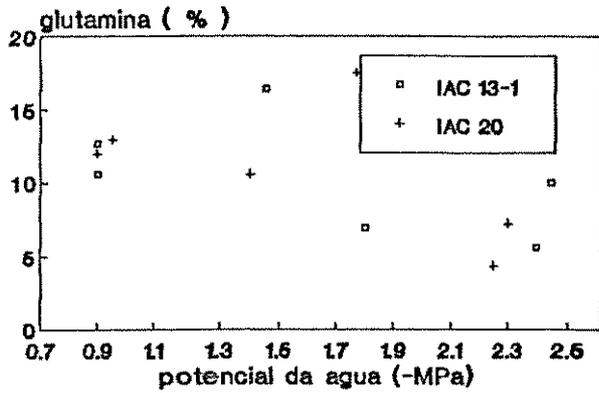


figura 9-a

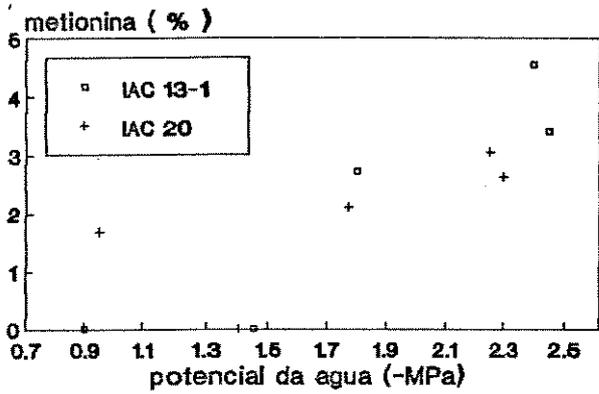


figura 9-c

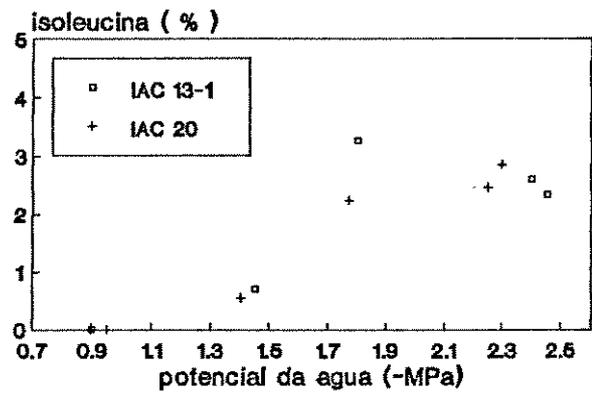


figura 9-b

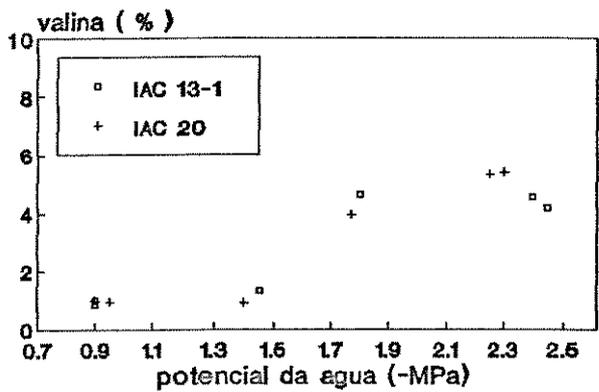


figura 9-d

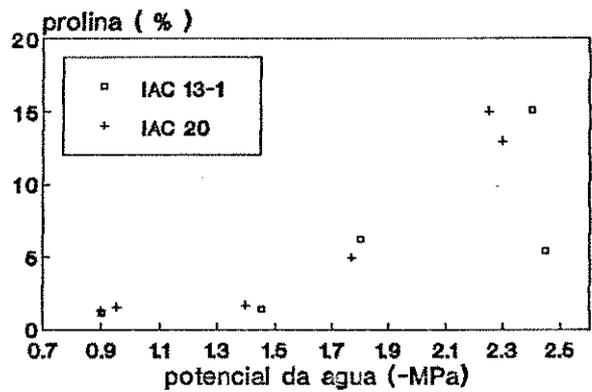


figura 9-e

4.4 - Recuperação da turgescência

Experimentos preliminares mostraram que a recuperação da turgescência de plantas com área foliar de aproximadamente 300 cm², e nas condições ambientais citadas no ítem 3, ocorreu em 240 minutos. Este foi, portanto, o tempo adotado nos experimentos relatados a seguir.

Os valores de Ψ_a obtidos durante o período de recuperação da turgescência das duas cultivares, encontram-se na figura 10. Os pontos foram ajustados, para cada cultivar, por meio de uma função polinomial assimétrica, e o teste de comparação das curvas indicou não haver diferença entre os materiais. Nota-se que nos primeiros 30' as plantas recuperaram praticamente metade da energia potencial da água obtida ao final do período de avaliação, com os Ψ_a na planta aumentando de -2.1 para -1.3 MPa. Entre os 30 e 90' a recuperação foi mais lenta, com alterações de -1.3 a -0.85 MPa. Nos 150' seguintes ocorreu a recuperação total do potencial da água na planta, que foi de -0.6 MPa.

Os resultados das determinações da atividade da redutase de nitrato durante o período de recuperação, encontram-se na figura 11. Observa-se que, em plantas deficientes de NO₃ a ARN permaneceu praticamente estável, com valores em torno de 10 % daqueles em que o NO₃ foi fornecido às plantas.

Nota-se, nas plantas supridas com NO₃, que a enzima apresentou um aumento constante de atividade durante os primeiros 120', quando atingiu os valores máximos. Observa-se que a atividade enzimática na IAC 20 foi ligeiramente superior que na IAC 13-1. Nota-se que também aos 120' os valores de Ψ_a estiveram próximos dos máximos obtidos pelas plantas em recuperação (figura 10).

Figura 10 - Variação do potencial da água na planta (Ψ_a), em -MPa, durante o período de recuperação da turgescência, em minutos, para as cultivares IAC 13-1 e IAC 20. As linhas referem-se ao ajustamento de uma função cúbica.

Figura 11 - Alterações da atividade da enzima redutase de nitrato, em $\mu\text{moles NO}_2/\text{gMS h}$, durante o período de recuperação da turgescência, em minutos, para as duas cultivares estudadas.

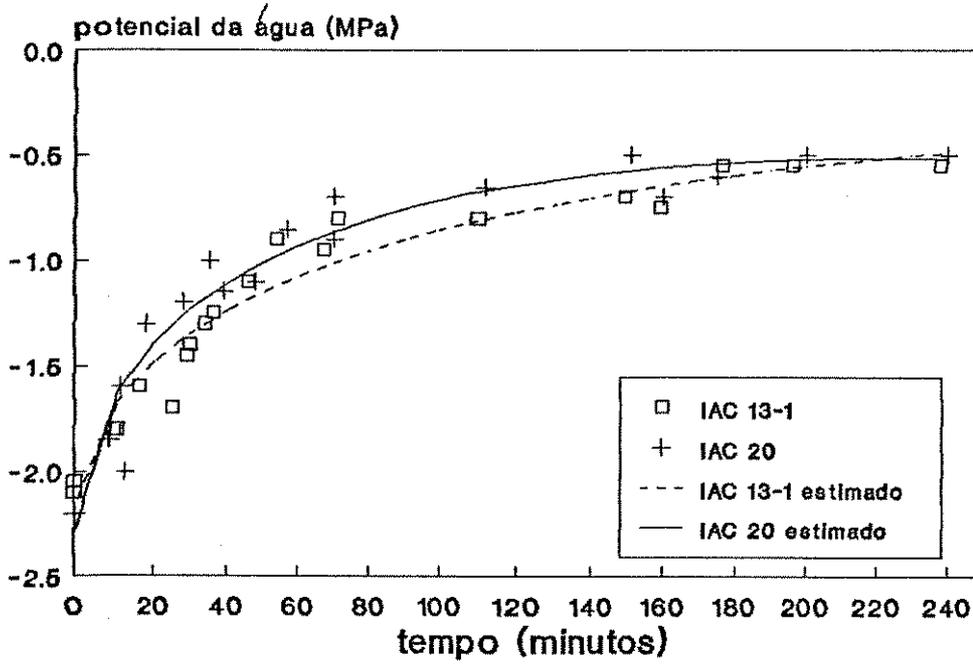


figura 10

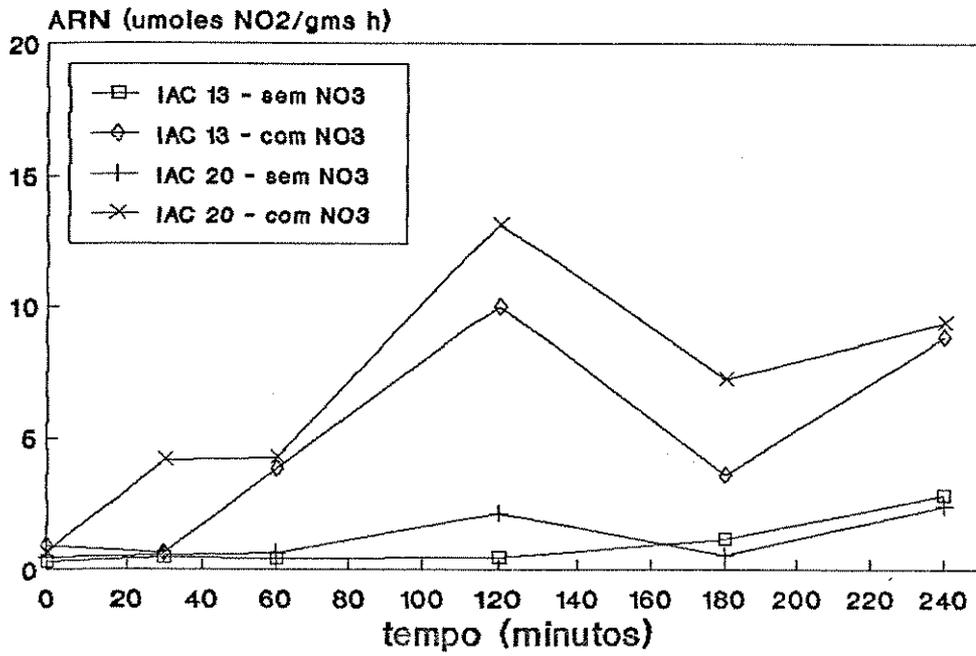


figura 11

Os valores de ARN das plantas supridas com NO_3 e em recuperação, no entanto, esteve bem abaixo daqueles obtidos em plantas em estado normal de turgescência e bem supridas de NO_3 , que situaram-se em torno de 30 $\mu\text{moles NO}_2/\text{gMS h}$ (análise não mostrada). Os valores da ARN nestas últimas são semelhantes àqueles encontrados na fase inicial do experimento de entrada em déficit (figura 5).

Os valores de TFL, de resistência estomática (RE) e de transpiração obtidos durante a recuperação da turgescência das plantas são mostrados na figura 12. Os resultados de TFL e RE indicam um comportamento semelhante àquele observado nas alterações do Ψ_a (figura 10). Nota-se, entretanto, que a velocidade de recuperação das TFL e RE, durante os primeiros 60', é ligeiramente menor que aquela encontrada para o Ψ_a da planta. Observa-se, também, que os valores máximos de TFL situaram-se um pouco abaixo daqueles encontrados nas primeiras leituras do experimento de entrada em déficit (figura 1).

Os valores de transpiração indicam que somente a partir dos 60' as plantas iniciaram a perda de água (figura 12-c), coincidentemente com a queda da resistência estomática (figura 12-b).

Figura 12 - Variação das taxas de fotossíntese líquida (TFL), em $\text{g CH}_2\text{O/m}^2\text{h}$ (fig. 12-a), da resistência estomática (r_s), em s/cm (fig.12-b), e da transpiração, em $\text{g H}_2\text{O/dm}^2\text{h}$ (fig.12-c), durante o período de recuperação da turgescência, em minutos, para as duas cultivares. As linhas nas fig.12-a e 12-b referem-se ao ajustamento de uma função polinomial assimétrica.

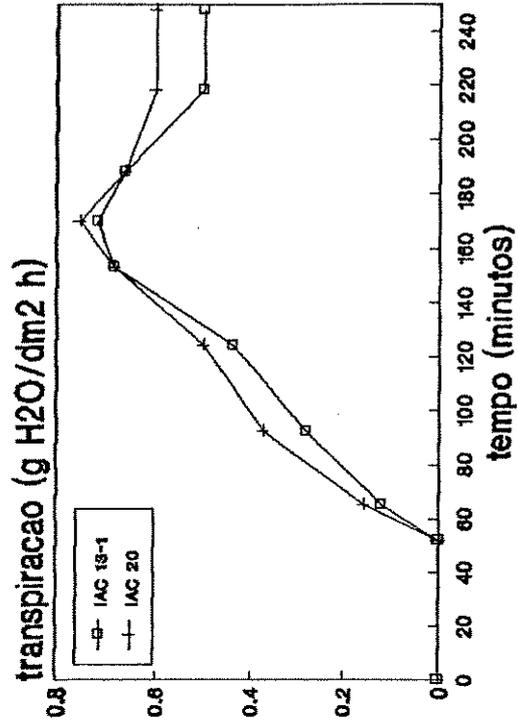


figura 12-C

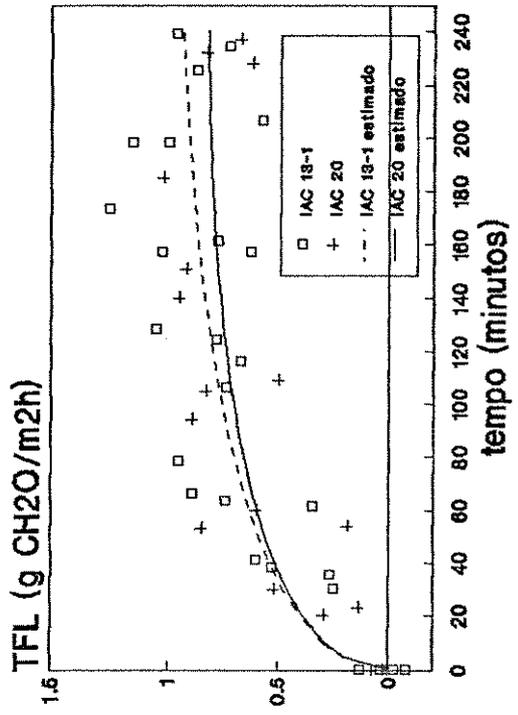


figura 12-A

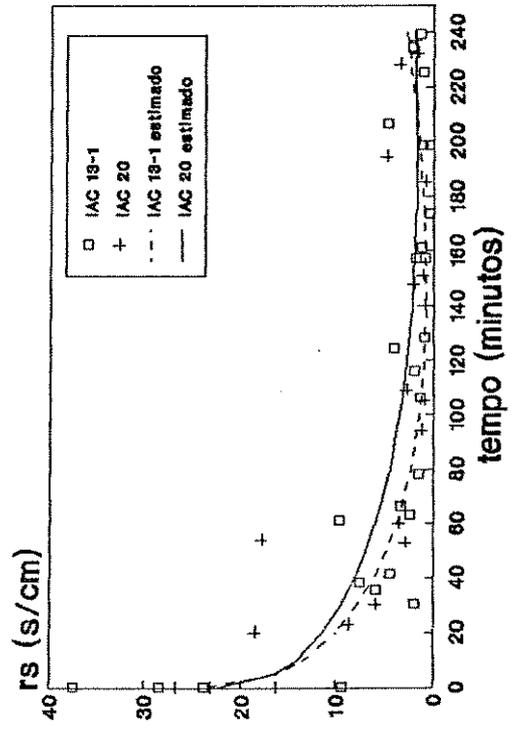


figura 12-B

4.5 - Curvas pressão-volume

As curvas pressão-volume dos tratamentos estudados encontram-se na figuras 13, e os parâmetros Ψ_s^{100} , Ψ_s^0 e E , obtidos grafica e analiticamente, estão sumarizados na tabela 4.

Pode ser observado que os valores de Ψ_s^{100} e Ψ_s^0 das duas variedades são próximos, quando as plantas são submetidas ao tratamento com irrigação (controle). Nota-se que os valores de Ψ_s^{100} e Ψ_s^0 obtidos para a cultivar IAC 13-1 são menores em cerca de 0.1 MPa, quando as plantas foram submetidas ao tratamento com estresse. Os ajustamentos osmóticos em plena turgescência foram de 0.15 e 0.03 MPa, enquanto que em turgescência zero os ajustamentos osmóticos foram de 0.18 e 0.07 MPa, para as variedades IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente.

Com relação ao módulo volumétrico de elasticidade, embora tenham se obtido aumentos proporcionais quando as duas variedades foram submetidas ao estresse hídrico, nota-se que aparentemente as plantas da cultivar IAC 13-1 possuem parede celular com maior elasticidade. Os resultados indicam que as variações de volume, nesta cultivar, são obtidas, provavelmente, com menores variações de pressão.

Figura 13 - Curvas pressão volume obtidas das relações $1/P_a$ versus CRA, para os tratamentos:
IAC 13-1 - controle (fig. 13-a),
IAC 13-1 - estressada (fig. 13-b),
IAC 20 - controle (fig. 13-c),
IAC 20 - estressada (fig. 13-d).

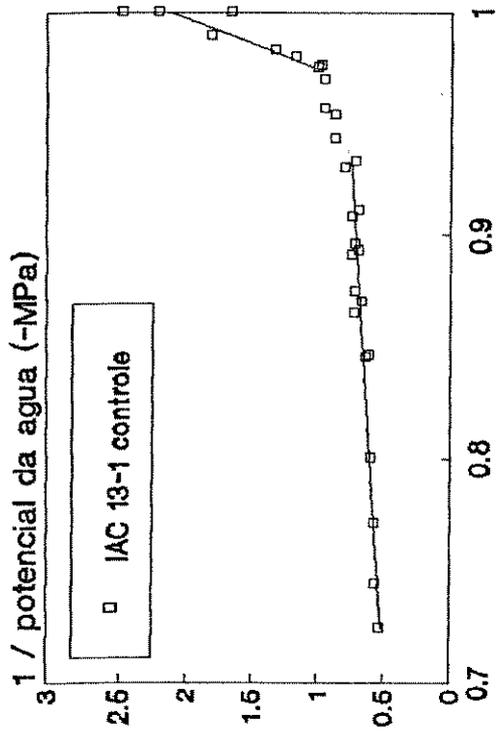


figura 13-A

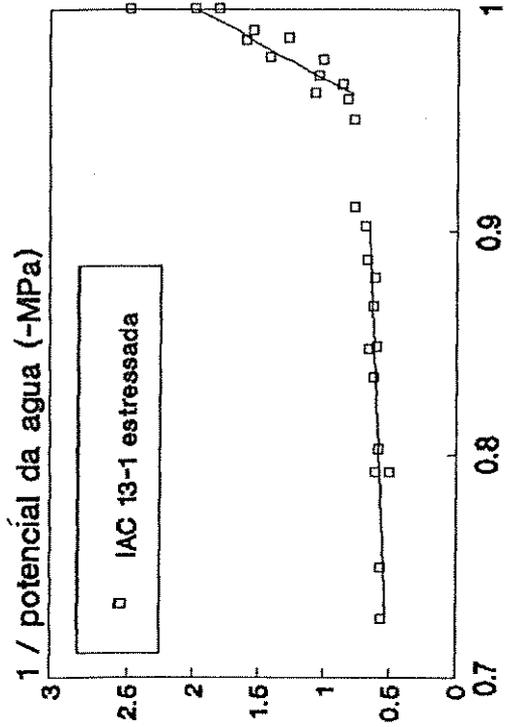


figura 13-B

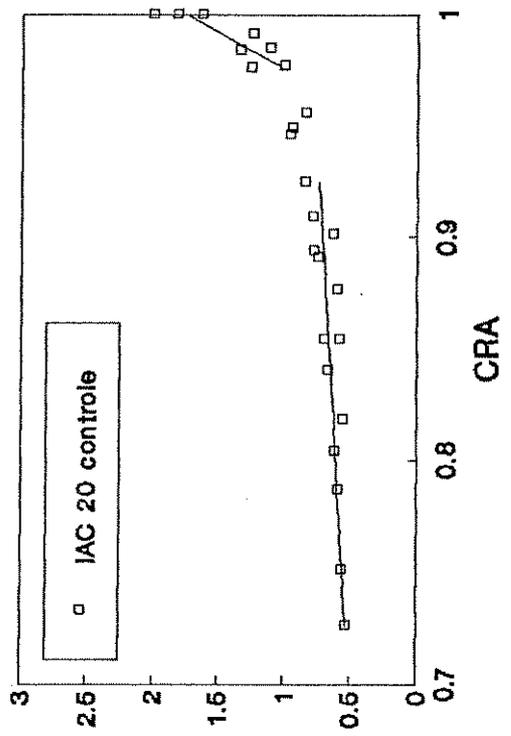


figura 13-C

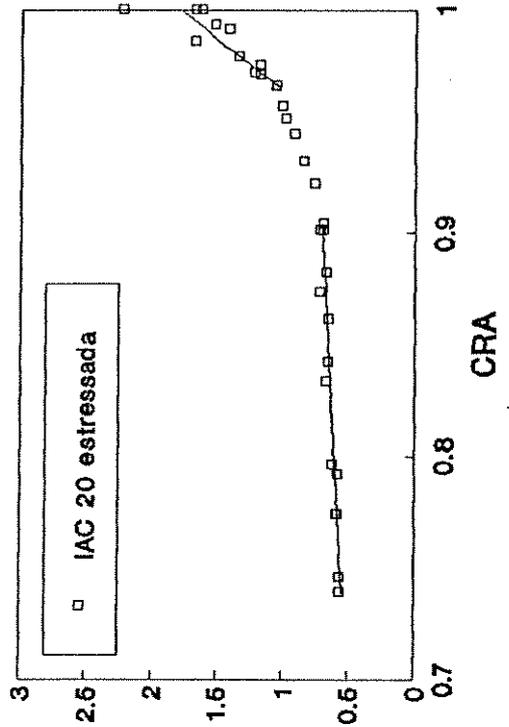


figura 13-D

Tabela 4 - Valores de Potencial osmótico em máxima turgescência (Ψ_s^{100}), Potencial osmótico em turgescência zero (Ψ_s^0) e Módulo volumétrico de elasticidade (E), em MPa, das variedades IAC 13-1 e IAC 20 submetidas aos tratamentos controle e de estresse hídrico.

	Ψ_s^{100}	Ψ_s^0	E
-IAC 13-1, controle	-1.21	-1.33	25.0
-IAC 13-1, estressado	-1.36	-1.51	35.5
-IAC 20, controle	-1.23	-1.35	37.0
-IAC 20, estressado	-1.26	-1.42	50.9

4.6 - Exportação de assimilados

4.6.1 - Medidas biofísicas

As diferenças entre a temperatura do ar e da folha, obtidas ao longo dos dias de análise para as plantas dos tratamentos controle e com estresse, são mostradas na figura 14. Enquanto as diferenças obtidas no tratamento controle estiveram muito próximas de 0°C (fig. 14-a), nos tratamentos estressados as temperaturas da folha sempre se mantiveram acima da do ar. As diferenças entre as temperaturas atingiram os valores máximos em torno das 12:00h, e a partir deste momento, à medida que diminuiu o fluxo de radiação incidente, as diferenças também diminuíram.

Os valores de resistência estomática (r_s) obtidos ao longo dos dois dias de avaliações, são mostrados na figura 15. Os valores de r_s para os tratamentos controle não se alteraram ao longo do dia, e permaneceram em torno de 3 s/cm (figura 15-a). Nos tratamentos estressados a r_s aumentou (figura 15-b), atingindo o máximo em torno das 15:00h. Nota-se que na última série de leituras, em torno das 18:00h, os valores de r_s apresentaram uma queda razoável.

Na figura 16 são mostrados os dados de transpiração (T). Nos tratamentos controle os valores de T aumentaram desde o momento em que foram iniciadas as avaliações, e as taxas máximas foram observadas em torno das 12:00h, com valores em torno de 7 g H₂O/dm²h (figura 16-a). Analisando as figuras 16-a e 16-b nota-se que ao redor das 9:00h, quando iniciaram-se as leituras, as taxas de transpiração não diferiram nos tratamentos controles e estressados. A partir deste momento, foi observada uma diminuição nas taxas de perda de água nos tratamentos estressados. A restrição imposta à transpiração foi mantida até o final

Figura 14 - Diferenças entre a temperatura do ar e da folha, em °C, para as duas cultivares, observadas nos tratamentos controle (fig. 14-a) e estressados (fig. 14-b).

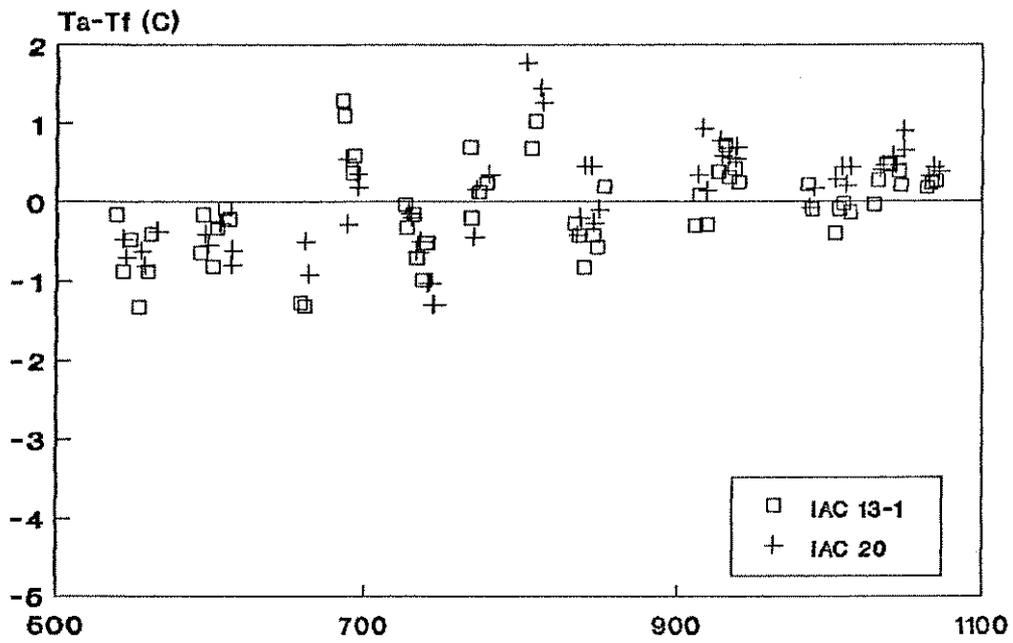


figura 14-A

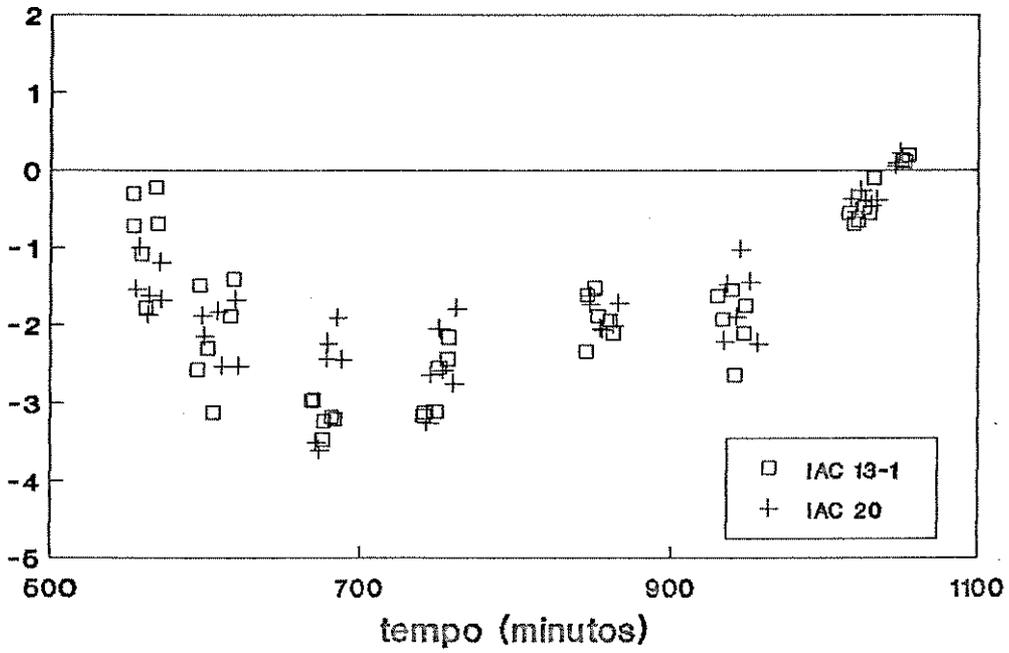


figura 14-b

Figura 15 - Alterações dos valores de resistência estomática (rs), em s/cm, para cada cultivar, observadas nos tratamentos controle (fig. 15-a) e estressados (fig. 15-b).

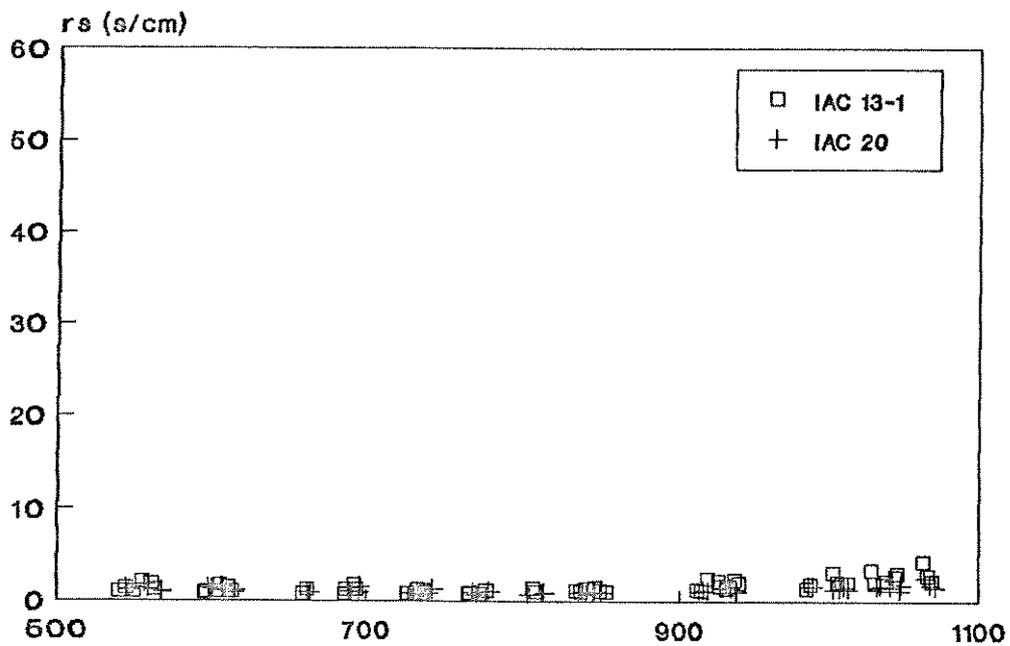


figura 15-A

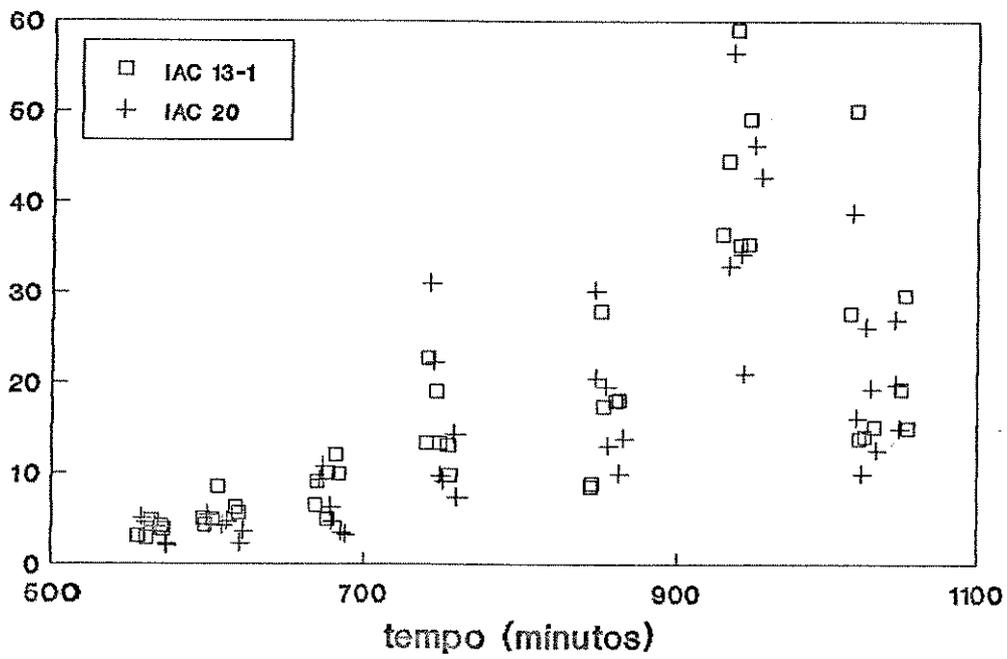


figura 15-B

Figura 16 - Variação dos valores de transpiração, em $\text{g H}_2\text{O/dm}^2\text{h}$, para cada cultivar, observadas nos tratamentos controle (fig. 16-a) e estressados (fig. 16-b).

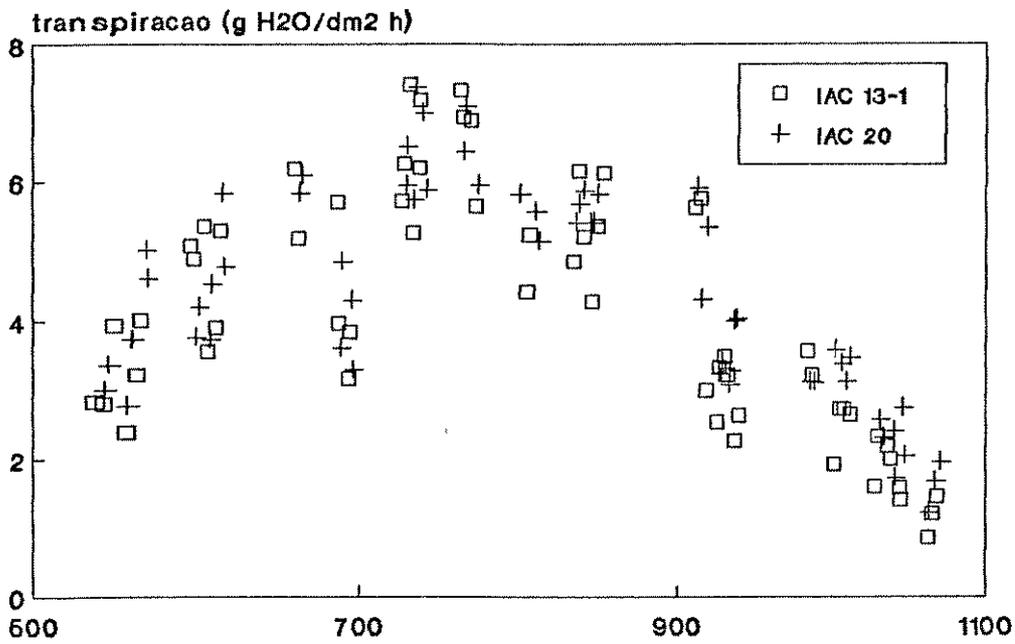


figura 16-A

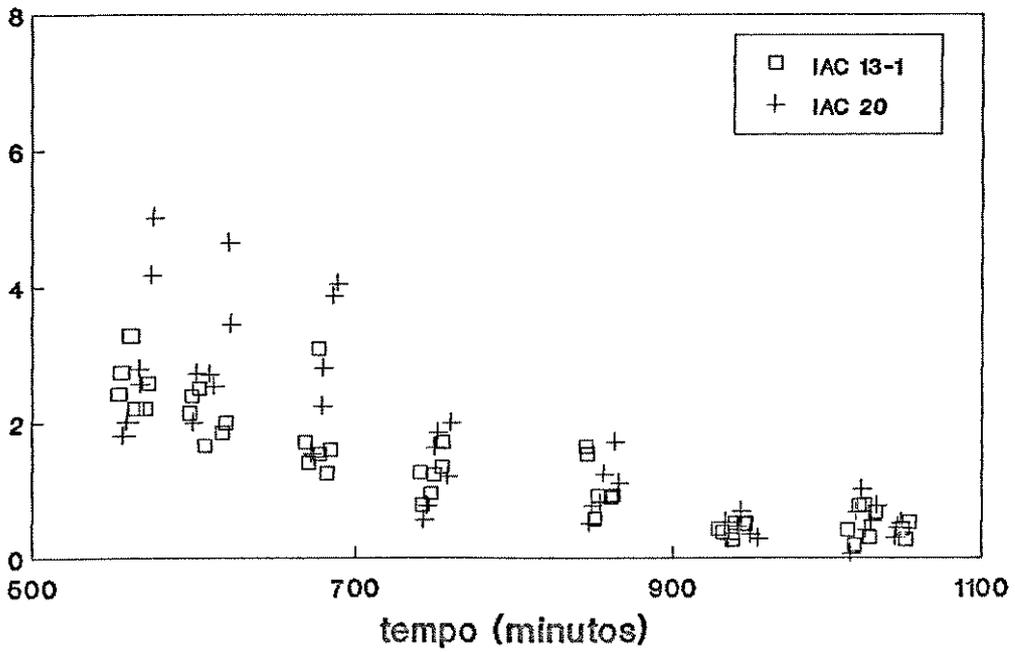


figura 16-B

do período luminoso. Nota-se que, a partir das 12:00h as taxas de transpiração nos tratamentos estressados não ultrapassaram 20% daquelas observadas nos tratamentos controle.

Os resultados das determinações das concentrações intracelulares de CO_2 (Ci) são mostrados na figura 17. Enquanto que nos tratamentos controle os valores médios de Ci permaneceram em torno de 180 ppm (figura 17-a), as médias observadas nos tratamentos estressados estiveram em torno de 160 ppm (figura 17-b).

4.6.2 - Balanço de Carbono e Exportação de Fotoassimilados

As alterações no conteúdo de açúcares redutores nas folhas, durante os períodos de avaliação, são mostradas na figura 18-a. Nos tratamentos controle, os teores aumentaram a partir das 9:00h, atingiram valores máximos às 12:00h, mantiveram-se estáveis até as 15:00h, diminuindo a seguir até as 18:00h, permanecendo nestes níveis até o dia seguinte. Embora os teores de açúcares redutores nos tratamentos estressados tenham mostrado uma variação semelhante, os valores absolutos foram superiores àqueles observados nos tratamentos controle, indicando maior concentração de açúcares redutores nos tecidos foliares das plantas submetidas a condições de déficit hídrico.

Os teores de sacarose determinados nas folhas ao longo das análises foram semelhantes em todos os tratamentos estudados. De um modo geral, observa-se uma tendência de aumento nos teores de sacarose no período luminoso, e uma diminuição durante o período escuro (figura 18-b).

Figura 17 - Variação dos valores das concentrações intracelulares de CO_2 (C_i), em ppm, para cada cultivar, observadas nos tratamentos controle (fig.16-a) e estressados (fig. 16-b).

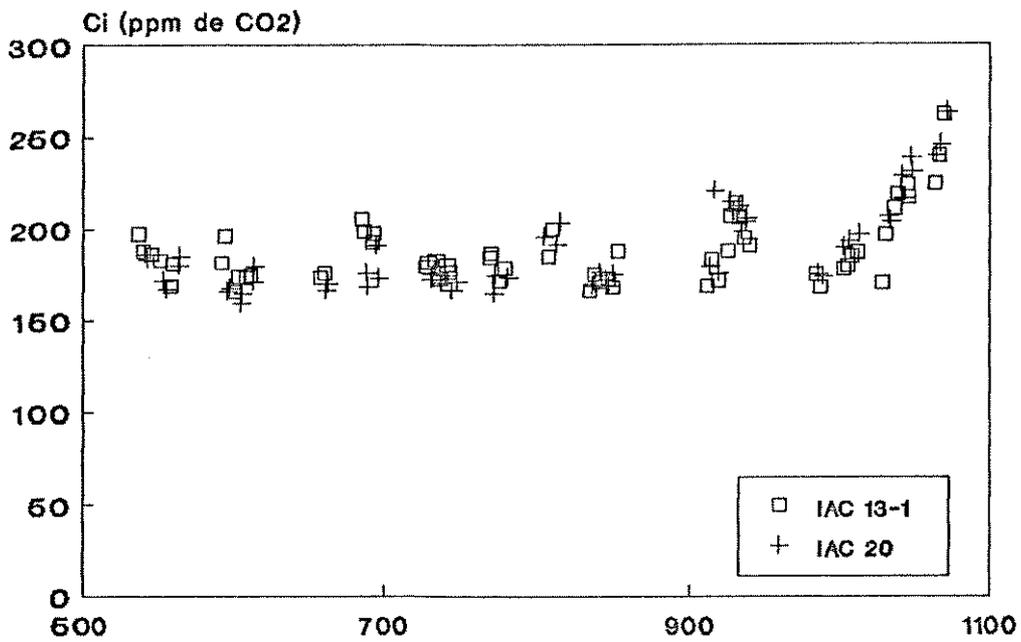


figura 17-A

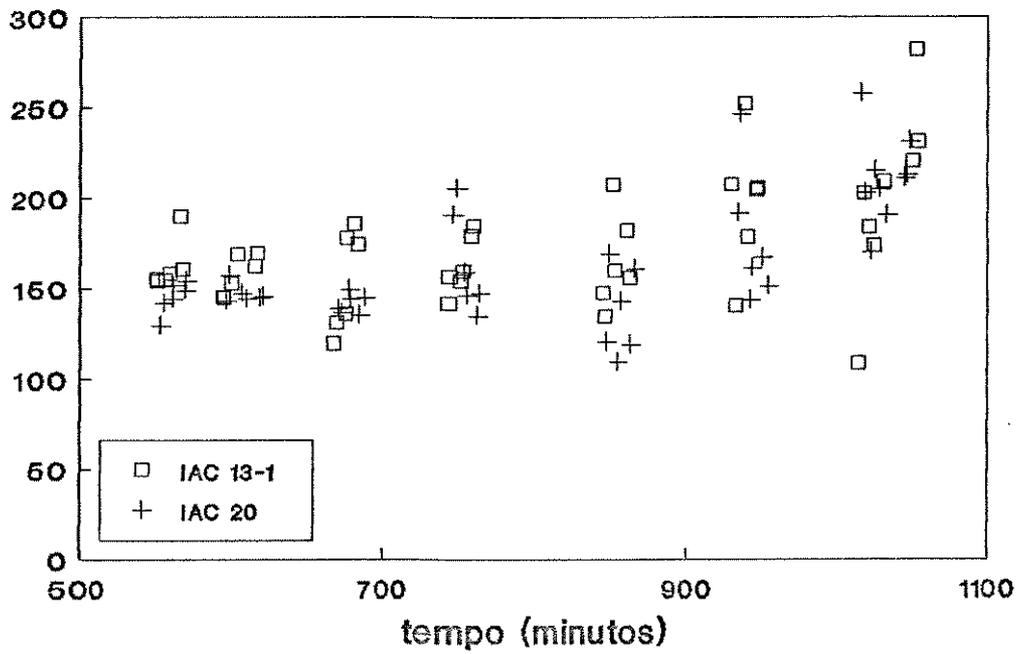


figura 17-B

As determinações dos teores de açúcares solúveis totais mostrados na figura 18-c, indicam um nítido padrão de resposta às variações da irradiância ao longo do período iluminado, com um rápido e significativo aumento entre as 9:00 e 12:00h, e uma diminuição gradativa nas seis horas seguintes de luz. Durante o período escuro, os teores caíram praticamente para os níveis observados na manhã anterior. Nos tratamentos estressados observa-se, na cultivar IAC 20, maiores aumentos nos teores, entre as 9:00 e 12:00h. Por outro lado, no período das 12:00 e 15:00h, os teores de açúcares solúveis totais na IAC 13-1 praticamente não se alteraram, ao contrário da IAC 20, em que ocorreu uma queda no mesmo período. Finalmente, entre as 15:00h e as 7:00h do dia seguinte, não ocorreram alterações significativas nos teores das duas variedades.

Quanto aos níveis de amido no tecido foliar, notou-se um aumento contínuo e constante, nos tratamentos controle, entre as 9:00 e 18:00h, com valores ligeiramente maiores na cultivar IAC 13-1 (figura 18-d). Somente a partir das 18:00h é que iniciou-se a diminuição dos teores de amido. Nos tratamentos estressados ocorreram pequenos aumentos nas quantidades de amido entre as 9:00 e 12:00h, sendo que a partir deste momento ocorreram diminuições até as 7:00h do dia seguinte.

Os valores das taxas de assimilação de CH_2O (TA), do conteúdo de açúcares (VCA) e das taxas de exportação de assimilados (TEA) nas folhas das plantas controle e estressadas, nos diferentes intervalos de tempo, são mostrados na tabela 5 e figura 19.

Observa-se, nos tratamentos controle, que as maiores taxas de assimilação de CH_2O ocorreram entre as 9:00 e 15:00h, com uma queda, em torno de 50%, entre as 15:00 e 18:00h. No intervalo entre as 9:00 e

Figura 18 - Variação nas concentrações de açúcares redutores (fig. 18-a), sacarose (fig. 18-b), açúcares solúveis totais (fig. 18-c) e amido (fig. 18-d), em mg/gMS, para as duas cultivares, nos tratamentos controle e estressado.

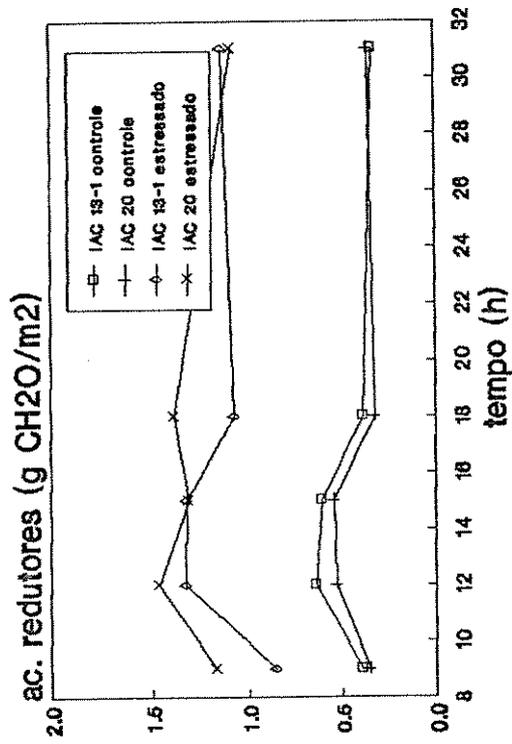


figura 18-A

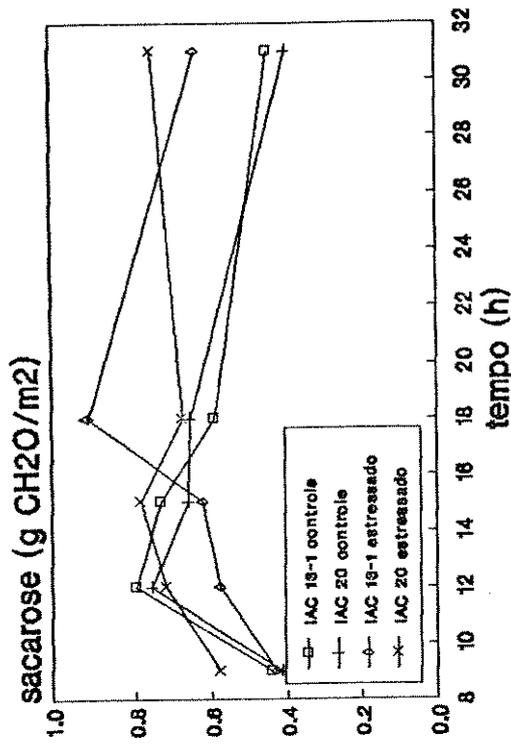


figura 18-B

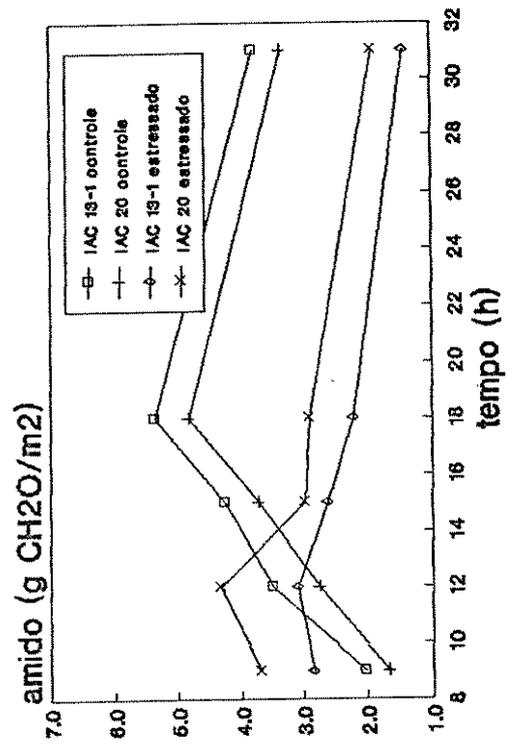


figura 18-D

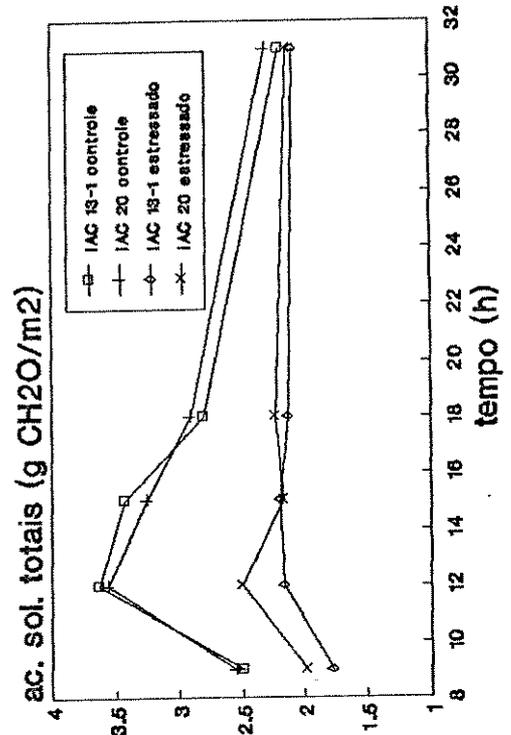


figura 18-C

Tabela 5 - Taxas de assimilação (TA), em g CH₂O/m²h, variações nos teores de açucares (VCA), em g/m², e taxas de exportação de assimilados (TEA), em g CH₂O/m²h, dos tratamentos controles e estressados, nos diferentes intervalos de tempo (h).

tratamentos controles

(h)	----- IAC 13-1 -----			----- IAC 20 -----		
	TA	VCA	TEA	TA	VCA	TEA
09-12	3,607	2,613	0,994	3,835	2,099	1,736
12-15	3,470	0,569	2,991	3,850	0,678	3,172
15-18	1,958	0,484	1,474	2,043	0,764	1,278
18-07			0,162			0,078
Total	9,035	3,666	5,621	9,728	3,541	6,264

tratamentos estressados

09-12	1,131	0,652	0,478	1,631	1,168	0,463
12-15	0,401	-0,451	0,852	0,509	-1,695	2,204
15-18	0,150	-0,470	0,620	0,185	0,007	0,178
18-07			-1,161			-0,890
Total	1,682	-0,269	0,789	2,325	-0,520	

Figura 19 - Valores das taxas de assimilação de CH_2O e das taxas de exportação de assimilados, em $\text{g CH}_2\text{O/m}^2$, nas folhas das plantas controle (fig. 19-a) e estressadas (fig. 19-b) das cultivares IAC 13-1 e IAC 20, no intervalo de 3 horas.

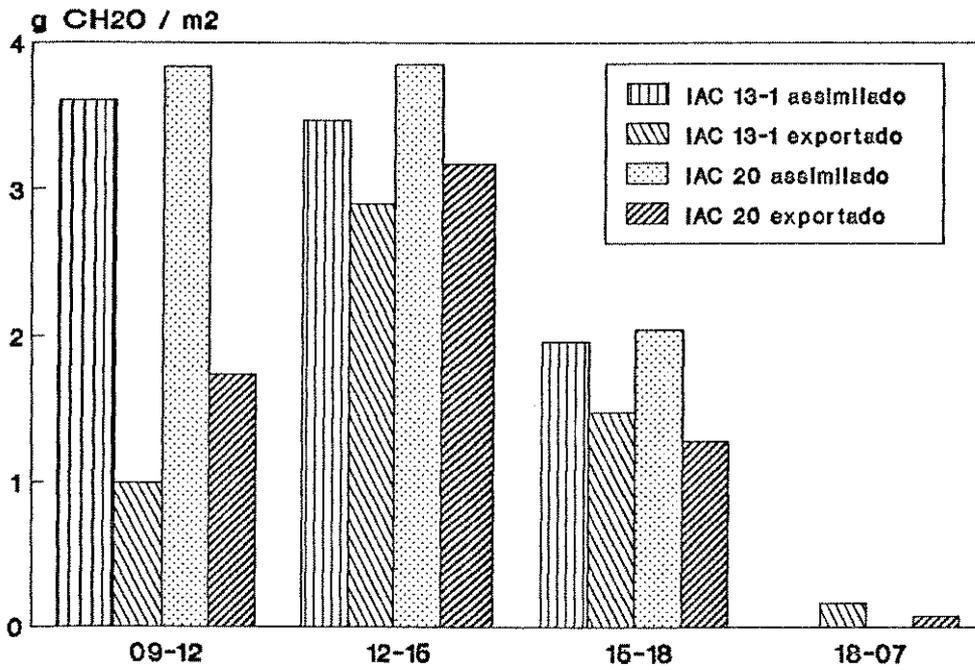


figura 19-A

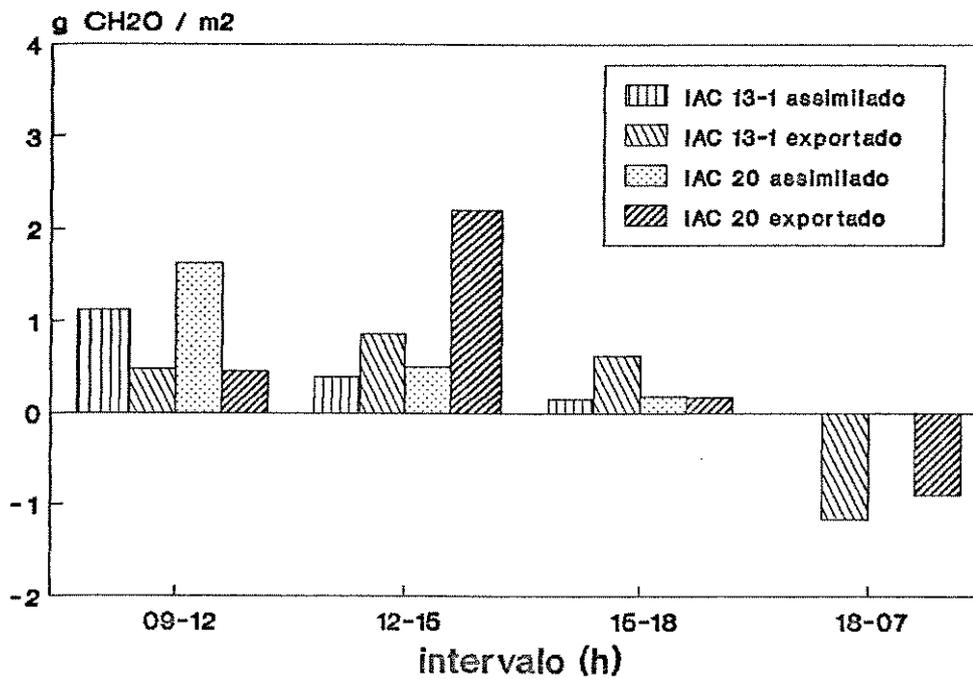


figura 19-B

12:00h, a taxa de exportação de assimilados foi de aproximadamente 45% do carbono fixado, para a cultivar IAC 20, e de menos que 30% na IAC 13-1. As maiores TEA ocorreram entre as 12:00 e 15:00h, com valores em torno de 85% do total de C fixado nesse período, nas duas variedades.

Embora as porcentagens de assimilados exportados no período de um dia tenham sido próximas para as duas variedades (62 e 64%), nota-se que a cultivar IAC 20 apresentou uma assimilação total em torno de 10% superior que a IAC 13-1.

Quanto aos tratamentos estressados, observa-se que as maiores taxas de assimilação de CH_2O ocorreram entre as 9:00 e 12:00h, e com valores que representaram de 30 a 40% daqueles observados nos tratamentos controle. No período das 12:00 às 18:00h ocorreu um sensível decréscimo nas taxas de assimilação, com os valores de TA situando-se em torno de 15% daqueles observados nos tratamentos controle.

As taxas de exportação de assimilados das duas variedades foram semelhantes no período das 9:00 às 12:00h. Entretanto, entre as 12:00 e 15:00h observa-se que os valores de TEA foram superiores que TA, sendo que nesse intervalo a cultivar IAC 20 apresentou uma taxa de exportação de assimilados bem superior que a IAC 13-1.

5 - DISCUSSÃO

O sistema radicular da cultivar IAC 13-1 atingiu uma profundidade maior do que a cultivar IAC 20, em 10 e 20 cm, nas coletas efetuadas aos 40 e 80 dias, respectivamente. No entanto, sómente de 0,2 a 0,4% das raízes dessa cultivar concentram-se nestes 20 cm, o que, eventualmente, é de pouca significação com relação à absorção de água.

Ao comparar-se a concentração de raízes terciárias nos primeiros 50 cm de profundidade, observa-se que os valores, aos 80 dias, são praticamente idênticos, ou seja, 63 e 65% para as cultivares IAC 13-1 e IAC 20.

Na primeira coleta, o fato da cultivar IAC 20 ter aparentemente apresentado um sistema radicular mais superficial se refletiu em maior concentração de raízes nas primeiras seis camadas, em relação à IAC 13-1. Essas diferenças praticamente desapareceram na amostragem realizada aos 80 dias.

Mesmo com a ocorrência de déficit de água, não foram observadas grandes diferenças na distribuição do sistema radicular entre as duas cultivares, na primeira coleta. Os resultados obtidos sugerem que as duas cultivares apresentam sistemas radiculares semelhantes, não só na ocupação do volume de solo, como também na capacidade de extração de água do perfil do solo. Como decorrência, é razoável admitir-se que o sistema radicular não deve ser responsável por eventuais diferenças do balanço hídrico observadas na parte aérea das duas cultivares. Assim, se uma cultivar vier a apresentar uma tolerância maior ao estresse de água, em comparação com o outro material, este comportamento, provavelmente,

seria definido, segundo CORTES e SINCLAIR (1986), pela manutenção mais eficiente da turgescência dos tecidos, obtida através de ajustamento osmótico ou alterações da elasticidade da parede celular.

Com relação ao crescimento, a alta sensibilidade da expansão foliar ao déficit de água pode estar associada à influência do estado hídrico sobre a turgescência, e os seus efeitos no alongamento celular (HSIAO et al. 1978).

Em um programa de seleção envolvendo 15 materiais de soja de diversas origens, e utilizando 19 parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, Vidal e Arnoux, citados por MYERS et al. (1986), concluíram que a redução na expansão foliar e no crescimento do pecíolo, foram as características mais fortemente correlacionadas com a redução na produção de grãos.

O presente trabalho mostra uma correlação entre o crescimento foliar e o potencial da água da folha medido ao alvorecer, que apresentou desvio da linearidade em valores mais altos de potencial (figura 1). O tratamento estatístico dos dados permitiu estimar o potencial da água em que ocorreu a paralização do crescimento da folha, os quais foram -1,04 e -0,98 MPa para as cultivares IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente. A comparação das linhas de regressão não mostrou diferenças significativas entre as cultivares.

Utilizando folhas de algodoeiro, CUTLER e RAINS (1974) observaram uma resposta linear do crescimento em função do potencial da água da folha, e consideraram surpreendente este comportamento, pois a expansão foliar é estritamente correlacionada com o Ψ_p , e este é um parâmetro não-linearmente dependente de Ψ_a .

Conforme descrito por Lockhart, citado por TURNER (1986), a expansão foliar (E) pode ser estimada pela expressão:

$$E = m (P - Y),$$

onde m é a extensibilidade celular, P é a pressão de turgescência da célula acima de uma pressão de turgescência limiar Y, denominada limiar de rendimento. O crescimento foliar, portanto, nas condições experimentais empregadas, ocorreu em Ψ_a superiores a -1,0 MPa (valor médio para as duas cultivares). Em Ψ_a menores, portanto, o componente Ψ_p não foi suficiente para superar o valor de Y.

Os níveis de Ψ_a de -1,04 e -0,98 MPa, obtidos no presente trabalho, foram mais elevados que aqueles observados por CUTLER e RAINS (1974), para outra cultivar de algodoeiro. Eles observaram que o crescimento foliar havia sido paralisado em Ψ_a , antes do alvorecer, de -1,5 MPa, enquanto que Jordan, citado por BIELORAI et al. (1983), relatou que, sob condições de estufa, aumentos na área foliar foram inibidos em Ψ_a de -0,8 MPa.

Na tarde do dia em que foram observadas as paralisações do crescimento, os Ψ_a na folha atingiram valores entre -1,5 e -1,6 MPa, próximos daqueles observados por McCREE e DAVIS (1974), em folhas de sorgo.

Uma resposta fisiológica particularmente sensível à redução do Ψ_a refere-se à alteração da síntese protéica (HSIAO, 1973), associada à estruturação dos polissomas e aos processos de transcrição e tradução (MORILLA et al., 1973). Como consequência, algumas enzimas que apresentam alta relação síntese:degradação, como a redutase de nitrato (MEYERS et al., 1986), exibem forte inibição quando Ψ_a diminui. Morilla et al. (1973) sugeriram que a queda da ARN em folhas de milho submetidas

a baixo Ψ_a , foi devido, principalmente, a uma reduzida taxa de síntese da enzima.

Entre os valores de Ψ_a na folha de -0,7 e -1,4 MPa, a atividade da redutase de nitrato exibiu sensível decréscimo, o que indica a grande sensibilidade da enzima às alterações de Ψ_a (figura 5). Observa-se que a enzima teve a sua atividade praticamente cessada em Ψ_a abaixo de -1,5 MPa. O comportamento da enzima associado à redução do Ψ_a foi idêntico ao observado por MANAM et al. (1977), em folhas de soja. Em sorgo, a ARN foi substancialmente reduzida quando o Ψ_a na folha aproximou-se de -1,5 MPa (TEARE et al., 1974), e a inibição da atividade foi observada em cevada quando o Ψ_a atingiu -1,2 MPa (HUFFAKER 1970). MEGURO e MAGALHÃES (1983), utilizando diferentes cultivares de cafeeiro, observaram uma significativa redução da atividade da enzima em valores de Ψ_a entre -1,0 e -3,0 MPa. Em milho foi observada uma redução de 98% na ARN, quando o potencial da água alcançou -1,2 MPa (BECKER e FOCK, 1986).

A expressão dos resultados dos experimentos de avaliação dos efeitos dos diferentes estados de energia da água na folha sobre a atividade da redutase de nitrato, através das Curvas de Arrhenius, que são indicativas das alterações conformacionais e funcionais das estruturas celulares e moleculares, mostrou uma mudança na inclinação da curva de atividade enzimática quando as temperaturas da folha e do ar se igualaram (figura 6-B). Através do conceito do balanço de energia, sabe-se que, à medida que o componente calor latente de vaporização é diminuído, ocorre um aumento do componente calor sensível. A partir do momento em que não ocorre mais diferença entre as temperaturas do ar e da folha, a tendência é aumentar a temperatura da folha, em função do armazenamento de parte da energia que incide no tecido foliar, e que não

é mais dissipada por transpiração. Portanto, igualdade entre as temperaturas do ar e da folha pode ser indicação de uma restrição de água no tecido foliar.

Embora tenham sido detectados altos níveis de nitrato nas folhas (resultados não mostrados), estes poderiam estar compartimentalizados em reservatórios inativos nas células. Assim, em baixos Ψ_a é possível que tenha ocorrido limitação no transporte do nitrato para o local de indução, causando, portanto, queda da atividade da enzima.

Como sugerido por MEGURO e MAGALHÃES (1983), o ensaio *in vivo* da redutase de nitrato parece ser um método sensível para avaliar o efeito do estresse de água sobre o crescimento das plantas. Em função da importância da enzima na modulação de importantes atividades celulares, tais a como incorporação de nitrogênio mineral em compostos orgânicos, o uso do ensaio, sob condições de estresse, pode se constituir em um parâmetro indicativo do nível geral do metabolismo na planta.

Dentre os componentes que interferem na atividade química da água, o potencial osmótico adquire importância devido a sua associação com os processos que determinam o fluxo de água na planta, modulado por alterações do metabolismo. A determinação do Ψ_s de folhas submetidas a défices crescentes de água mostrou que a folha atingiu o Ψ_p igual a zero em Ψ_a entre -1,4 e -1,5 MPa (figura 7), pois neste ponto o Ψ_a da folha igualou-se ao Ψ_s . A análise dos pontos com valores de Ψ_a abaixo de -1,5 MPa indicam que estes são menores que Ψ_s , mostrando que as células encontram-se plasmolisadas.

Potenciais osmóticos determinados após congelar e descongelar um tecido podem ser superestimados, porque no processo de

descongelamento o suco celular é diluído pela água do apoplasto. Uma vez que o volume de água apoplástica é mantido relativamente constante à medida que a folha sofre desidratação (TYREE, 1976), este fator de diluição aumenta à medida que Ψ_a diminui. Assim, o método osmométrico empregado para estimar Ψ_s forneceu valores de Ψ_p que podem ter sido sub-estimados à medida que Ψ_a diminuiu. Isto pode justificar, pelo menos em parte, os valores negativos de Ψ_p que podem ser deduzidos na figura 7, em Ψ_a abaixo de -1,5 MPa.

O fato dos valores de Ψ_s^{100} e Ψ_s^0 da cultivar IAC 13-1 terem sido menores que os da IAC 20 em 0,1 MPa, quando as duas cultivares foram submetidas ao tratamento estressado (tabela 4), indica que os seus tecidos podem suportar o estresse por mais tempo, antes que as células atinjam o estado de plasmólise.

As cultivares IAC 13-1 e IAC 20 apresentaram ajustamento osmótico, em plena turgescência, de 0,15 e 0,03 MPa, e de 0,18 e 0,07 MPa, em turgescência zero, respectivamente (tabela 4). O ajustamento osmótico tem sido amplamente documentado em várias espécies cultivadas, entre elas o milho, sorgo, soja, algodão, girassol e maçã (ACKERSON, 1981).

O abaixamento do Ψ_s parece ser consequência da acumulação líquida de solutos no simplasto. O aumento verificado no conteúdo de açúcares redutores, em resposta à diminuição do Ψ_a , pode ter resultado, pelo menos em parte, da degradação de amido, que também foi observado por TURNER et al. (1978-b) em sorgo e girassol.

ACKERSON e HEBERT (1981) relataram a ocorrência de acúmulo de amido em folhas totalmente expandidas de algodoeiro, que resultou em um abaixamento do potencial osmótico devido a diminuição do volume osmótico celular. Ao contrário do observado pelos autores mencionados acima, os

resultados apresentados na figura 8-a indicam que não houve acúmulo de amido em Ψ_a decrescentes, o que descarta a possibilidade de redução do volume osmótico celular. Assim, o ajustamento osmótico deve ter ocorrido somente em função da concentração de solutos, que pode ser confirmado pelos dados da figura 8-B, que mostram aumentos nos teores de açúcares redutores em Ψ_a decrescentes, provavelmente devido à intensificação da degradação do amido.

No trabalho de SOUZA et al. (1983), os teores de amido e de açúcares solúveis nas folhas de duas cultivares de algodoeiro submetidas ao estresse de água, foram semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Em duas cultivares de trigo com diferentes sensibilidades ao estresse de água, JOHNSON et al. (1984) observaram que o conteúdo de açúcares não redutores aumentou de 15 mg/gMS, no tratamento não estressado, para 39 mg/gMS no tratamento estressado, enquanto que os açúcares redutores não diferiram entre os tratamentos. O conteúdo de aminoácidos, inclusive prolina, observado por aqueles autores, foi maior nas folhas da cultivar mais resistente, quando submetida ao estresse.

Foi verificado um marcante aumento dos conteúdos de alguns dos aminoácidos analisados nas folhas de plantas sob estresse hídrico, os quais estão em concordância com os resultados obtidos por JONES et al. (1980) e NAVARO-IZZO (1990).

Os valores indicam que o conteúdo do ácido glutâmico diminuiu em Ψ_a menores que -1,5 MPa (figura 9-A), enquanto que o teor de valina aumentou a partir deste Ψ_a (figura 9-D). O mesmo comportamento pode ser observado para isoleucina (figura 9-b).

Embora a síntese de isoleucina e valina ocorra a partir de

diferentes precursores (2-oxobutirato e piruvato, respectivamente), um mesmo conjunto de enzimas participam de suas rotas biossintéticas (BRYAN, 1980). Este fato pode estar associado ao mesmo padrão de resposta da isoleucina e valina à imposição do estresse hídrico.

O aumento no conteúdo de metionina (figura 9-c) é provavelmente explicado pelo fato deste aminoácido ser precursor da síntese de etileno (YANG e ADAMS, 1980). Sabe-se que o etileno é liberado por folhas e estruturas de frutificação de plantas de algodoeiro submetidas a estresse de água (McMICHAEL et al., 1972; GUINN, 1976 e YANG e HOFFMANN, 1984). Assim, o aumento da concentração de metionina pode ser indicativo de estresse hídrico nos tecidos vegetais.

Os maiores teores de prolina observados em Ψ_a mais baixos (figura 9-e), também podem ter contribuído para o ajustamento osmótico. Em Ψ_a próximos de -1,8 MPa os níveis de prolina foram 5 vezes maiores do que em Ψ_a mais elevados; em Ψ_a de -2,3 MPa os níveis de prolina foram 15 vezes maiores do que aqueles observados em plantas em condições normais de turgescência.

O significado fisiológico da acumulação de prolina não está absolutamente esclarecido. HANSON, NELSEN e EVERSON (1977) e RIAZI et al. (1985) consideram a acumulação de prolina como um sintoma de injúria causada pelo estresse hídrico, enquanto que outros atribuem à prolina um papel positivo associado com algum tipo de resposta adaptativa. De acordo com STEWART e LEE (1974), a prolina é uma substância indutora de ajustamento osmótico. BLUM e EBERCON (1976) sugerem que prolina atue como fonte de energia, carbono e nitrogênio para tecidos em recuperação da turgescência, e PALEG et al. (1981) atribuem à prolina, e também à valina, um papel de proteção de diversas enzimas contra os efeitos inativadores do calor.

O aumento na concentração de prolina livre e açúcares, juntamente com a diminuição nos potenciais osmóticos, que foi observado em turgescência máxima e nula, fortalecem a conclusão de que ocorreu ajustamento osmótico. No entanto, o ajustamento osmótico observado nas duas cultivares foi pequeno quando comparado com os valores citados na literatura. JONES e TURNER (1978) observaram ajustamento osmótico de 0,9 MPa em plantas de sorgo, e JOHNSON et al. (1984) encontraram valores de ajustamento osmótico, a plena turgescência, de 0,45 e 0,24 MPa, em cultivares de trigo tolerante e susceptível ao estresse, respectivamente. Em turgescência zero, estes autores observaram ajustamento osmótico de 0,88 e 0,42 MPa. No presente trabalho o ajustamento osmótico, em turgescência zero, alcançado pelas cultivares IAC 13-1 e IAC 20, foi de 0,18 e 0,08 MPa, respectivamente.

HANSON e HITZ (1982) propõem que, para que haja elicitação do ajustamento osmótico, e também das alterações das propriedades da parede celular, as plantas devem ser cultivadas em condições de campo ou em recipientes grandes e profundos, que são condições necessárias para que a lenta redução da quantidade de água disponível para as raízes. Portanto, os experimentos relatados no presente trabalho, cuja duração foi relativamente pequena, podem ter induzido uma insuficiente expressão do ajustamento osmótico nas plantas das duas cultivares.

A elasticidade da parede celular determina a taxa em que a pressão de turgescência diminui com o decréscimo do volume de água na célula, ou vice-versa. Paredes mais elásticas são caracterizadas por decréscimos menores na pressão de turgescência em função da redução no volume de água na folha. Assim, a manutenção da pressão de turgescência pode ser facilitada por aumentos adicionais da elasticidade da parede

celular à medida que o Ψ_a diminui. Por outro lado, quando a parede celular é mais rígida, maiores reduções em Ψ_p e em Ψ_s são esperadas com a intensificação do processo de desidratação da folha. Para estabelecer o gradiente necessário para possibilitar a extração da água do solo, a cultivar mais resistente estabeleceria uma diferença maior de Ψ_a entre a folha e o solo, mantendo, portanto, a turgescência dos tecidos.

Alterações físicas nas dimensões ou elasticidade das células podem promover adaptação ao estresse hídrico. Células menores, com maior volume não osmótico, deve manter a turgescência em Ψ_a mais reduzidos em comparação com células maiores. Alterações nas propriedades elásticas da parede celular podem ser importantes para diminuir o potencial osmótico quando as plantas sofrem desidratação. No entanto, somente as mudanças físicas não promovem, obrigatoriamente, o ajustamento osmótico, sendo necessária a combinação entre os processos de acumulação de solutos e alterações físicas para o desenvolvimento da adaptação (ACKERSON, 1981).

Em ambas as cultivares estudadas ocorreram reduções bastante semelhantes na elasticidade da parede celular, nas plantas dos tratamentos com estresse hídrico (tabela 4). Os valores de E obtidos aproximam-se daqueles reportados por KASSAM e ELSTON, (1974), em *Vicia faba*, e WILSON et al. (1980), para forrageiras. MEYER et al. (1992) concluíram que os efeitos do estresse de água sobre a elasticidade do tecido não são muito consistentes, com aumentos observados em algumas espécies e diminuições em outras. Segundo JOLY e HAERR (1987), os diferentes resultados observados em plantas estressadas podem ser devido a diferenças do CRA do apoplasto.

IRIGOYEN et al. (1992) sugeriram que tecidos capazes de manter

um alto CRA à medida que Ψ_a diminui, são mais tolerantes à desidratação. A capacidade em reter um CRA maior em qualquer Ψ_a , pode refletir uma rigidez maior da parede celular e sua capacidade de suportar colapso mecânico à medida que a desidratação se intensifica.

A capacidade de uma planta recuperar-se de estresses de água temporários e/ou prolongados, e também a identificação da taxa desta recuperação, são de grande importância para a produção vegetal, pois estão ligadas à eficiência do uso da água pelas plantas e à produtividade-econômica (BIELORAI e HOPMANS, 1975).

As duas cultivares de algodoeiro estudadas neste trabalho não mostraram diferenças significativas na recuperação do Ψ_a de plantas estressadas (figura 10). A recuperação da turgescência ocorreu 2 horas e meia após a irrigação, sendo que o Ψ_a chegou a -0,6 MPa.

O experimento relacionado com a alteração da ARN em plantas em processo de recuperação da turgescência, mostrou que a atividade da enzima em plantas deficientes de NO_3 não se alterou, permanecendo em nível baixo (figura 11). Nas plantas supridas com NO_3 a atividade da enzima apresentou uma taxa de aumento constante durante os primeiros 120' (figura 11). Nota-se que os valores máximos da ARN obtidos pelas plantas em recuperação, e supridas com NO_3 , estiveram bem abaixo daqueles obtido em plantas em estado normal de turgescência e bem supridas com NO_3 (figura 5).

Dados com milho indicaram que a recuperação da ARN ocorreu aproximadamente 4 horas depois das folhas serem supridas com água e nitrato, em níveis de aproximadamente 50% da atividade da planta controle (SHANER e BOYER, 1976). Também em milho, a irrigação de plântulas estressadas com solução nutritiva livre de nitrato resultou em completa

recuperação do Ψ_a após 6 horas (MORILLA et al., 1973). Ao final deste período, a ARN também foi recuperada, alcançando o nível de 76% em relação ao controle. Durante este período não houve alterações nos conteúdos de nitrato no tecido foliar. Estes autores sugeriram que os níveis de nitrato nas folhas estressadas foram suficientes para promover altas ARN. Assim, é provável que em baixos Ψ_a tenha ocorrido inibição do transporte do nitrato para o sítio de indução, enquanto que com a irrigação o nitrato tornou-se novamente disponível para a expressão da atividade da redutase de nitrato.

HUFFAKER (1970) verificou que 20 horas após a irrigação de plantas de sorgo estressadas a ARN recuperou-se completamente.

Na ausência de crescimento ativo que ocorre em plantas estressadas, é possível que a inibição ou perda da atividade da redutase de nitrato se constitua em uma medida regulatória que evoluiu no sentido de conservar energia quando a fotossíntese é diminuída (SINHA e NICHOLAS, 1981).

Como a conservação de energia é um requisito essencial para a sobrevivência durante o estresse, seria razoável supor que uma rápida perda de quantidade da enzima redutase de nitrato se traduza numa vantagem metabólica. No entanto, seria importante que uma cultivar apresente alta ARN logo após a recuperação do estresse, para que a retomada da síntese protéica ocorra rapidamente.

Os resultados de TFL e RE (figura 12) indicam um comportamento semelhante àquele observado nas alterações do Ψ_a (figura 10). Observa-se que a velocidade de recuperação das TFL e RE, durante os primeiros 60', é ligeiramente menor que aquela encontrada para o Ψ_a da folha. Observa-se, também, que os valores máximos de TFL são ligeiramente

menores que aqueles encontrados nas primeiras leituras do experimento de entrada em déficit (figura 1). BIELORAI e HOPMANS (1975) observaram que a taxa de fotossíntese de plantas estressadas de algodoeiro atingiu a completa recuperação somente em torno de 24 horas após a irrigação.

Os valores de transpiração indicam que somente a partir dos 60' as plantas iniciaram este processo (figura 12-c), quando ocorreu, também, o início do processo de redução da resistência estomática (figura 12-b).

Dados registrados na literatura mostram que, embora a redução na assimilação de CO_2 , de plantas estressadas de algodoeiro, tenha sido menor em plantas aclimatadas ao déficit hídrico, a diminuição na transpiração foi similar nas plantas aclimatadas e não aclimatadas (PLAUT e FEDERMAN, 1991). Aqueles autores interpretam os resultados em função da assimilação de CO_2 ser controlada pela condutância estomática e atividade bioquímica, enquanto que a taxa de transpiração é determinada somente pelo comportamento dos estômatos. MATTHEWS e BOYER (1984) sugeriram que a atividade do cloroplasto contribui mais que o comportamento estomático para a manutenção de níveis aceitáveis da fotossíntese em baixos Ψ_a .

De acordo com DAIE (1988), duas características parecem ter um impacto principal na produtividade de uma cultura: i) a capacidade de produzir altos níveis de fotossintetatos em uma larga faixa de condições ambientais, e ii) a capacidade de transportar e particionar eficientemente os assimilados para órgãos economicamente importantes.

Em decrescentes níveis de Ψ_a , a cultivar IAC 20 apresentou valores de TFL superiores comparados com a cultivar IAC 13-1 (figura 2). Na faixa de -1,0 a -1,8 MPa, uma determinada TFL é observada para a IAC

20 com um Ψ_a menor em 0,2 MP do que aquele observado para a IAC 13-1. O teste de comparação de curvas indicou uma diferença significativa entre as duas cultivares (figura 2), enquanto que a comparação das linhas de regressão relacionando TFL com CRA mostrou não haver diferença estatística entre as cultivares (figura 3).

A redução da taxa de assimilação de carbono em função da diminuição do Ψ_a , conforme observado na figura 2, foi semelhante ao padrão encontrado por TURNER et al., (1978). JONES e RAWSON (1979) consideraram que, quanto maior a velocidade de estabelecimento do estresse, mais drástico é o efeito na redução da fotossíntese líquida. Em milho, o declínio da fotossíntese foi rápido em estresse entre -0,6 e -0,9 MPa, e mais lento em estresse entre -0,9 e -1,2 MPa (BECKER e FOCK, 1986).

A utilização das Curvas de Arrhenius indicou a ocorrência de alterações no sistema de assimilação de CO_2 quando a diferença entre as temperaturas da folha e do ar tendeu a 0°C (figura 4-B). Nesta mesma faixa de temperatura ocorreu a mudança na inclinação da curva de atividade da redutase de nitrato (figura 6-B). Nesta faixa de temperatura, as plantas apresentaram Ψ_a em torno de -1,5 MPa.

As avaliações biofísicas procedidas no experimento de Exportação de Assimilados evidenciaram a diferença no comportamento das plantas dos tratamentos controle e com estresse de água.

As diferenças observadas entre as temperaturas da folha e do ar para o tratamento controle estiveram em torno de $\pm 1^\circ\text{C}$ (figura 14-A). No tratamento estressado a temperatura da folha sempre foi maior que a do ar, atingindo valores de até $3,5^\circ\text{C}$ em torno das 12:00h (representa-

do por 720 minutos na figura 14-B). BIELORAI e HOPMANS (1975) observou diferenças de $2,5^{\circ}\text{C}$ em folhas de algodoeiro crescidas em solo submetido a Ψ_a de $-1,6$ MPa.

JORDAN (1983) relatou que os valores de r_s de plantas de algodoeiro submetidas a estresse de água alcançou valores de 30 s/cm, enquanto que no presente trabalho foram observados valores próximos de 60 s/cm (figura 15-B). Às 12:00h, as folhas das plantas estressadas apresentaram valores de r_s em torno de 20 s/cm. A modulação da transpiração (T) pelos movimentos estomáticos fica bem evidenciada ao comparar-se as figuras 15 e 16. Enquanto os estômatos não apresentaram restrições à transpiração nos tratamentos controle (figuras 15-A e 16-A), observa-se a nítida dependência de T com relação a r_s nos tratamentos com estresse (figuras 15-B e 16-B).

Em plantas submetidas a estresse de água a assimilação de CO_2 muitas vezes é diminuída, enquanto a concentração interna de CO_2 (C_i) é mantida em níveis mais ou menos constantes (HUBER et al., 1984 e SCHULZE, 1986). Atribui-se este padrão de resposta à combinação de resistências estomáticas aumentadas (componente estomático) e à inibição da capacidade fotossintética do mesofilo (componente não-estomático).

Similarmente aos resultados observados por HUBER et al. (1984), o fechamento estomático, na folha estressada, não foi o único responsável pela redução da taxa de assimilação, pois as concentrações internas de CO_2 (figura 17-B) não se alteraram em comparação com as plantas não estressadas (figura 17-A). Assim, sob déficit hídrico, a inibição da fotossíntese pode ter ocorrido devido à ação do estresse sobre processos outros que não aqueles diretamente ligados à difusão de CO_2 . A limitação da fotossíntese em algodoeiro, devido a processos não-estomáticos, também foi observada por ACKERSON e HEBERT (1981), que

sugeriram que a acumulação de produtos finais da fotossíntese poderia reduzir as taxas de assimilação, por alterações metabólicas ou na difusão interna de CO₂.

Utilizando folhas de algodoeiro semelhantes na posição e na idade às estudadas no experimento de exportação de assimilados deste trabalho, ACKERSON (1981) verificou que os níveis de glicose em folhas estressadas, ao longo de um dia, atingiram valores aproximadamente duas vezes maiores do que os obtidos em folhas de plantas não estressadas. No presente trabalho, os níveis de açúcares redutores em folhas de plantas estressadas atingiram aproximadamente o triplo dos teores observados em folhas de plantas não estressadas (figura 18-A).

Nos tratamentos sem estresse hídrico foi observado um acúmulo de amido ao longo do período iluminado do dia (figura 18-D), o que também foi observado por ACKERSON (1981). De fato, o algodoeiro é caracterizado como uma planta acumuladora de amido (GOLDSCHMIDT e HUBER, 1992).

No tratamento estressado ocorreu uma redução nos teores de amido a partir das 12:00h (figura 18-D), que pode ter contribuído para o aumento dos teores de açúcares redutores discutido acima. Aproximadamente às 12:00h, os valores de Ψ_a determinados em algumas folhas esteve em torno de -1.8 MPa. Verifica-se, na figura 2, que nestes valores de Ψ_a , as TFL foram aproximadamente 30% daqueles observados em Ψ_a referentes a condição não estressada (Ψ_a mais altos).

Os resultados observados neste trabalho, para os tratamentos controle, foram semelhantes àqueles encontrados por HENDRIX e HUBER (1986), que verificaram, em algodoeiro, máxima taxa de assimilação de C

em torno do meio-dia, enquanto as maiores taxas de exportação de assimilados foram obtidas ao longo da tarde.

Foi observado, também, que a cultivar IAC 20 apresentou assimilação total de C em torno de 10% superior que a cultivar IAC 13-1, o que pode justificar, em parte, sua maior produção (GRIDI-PAPP et al., 1992). Como ocorreu exportação de assimilados, e como os níveis de sacarose não foram alterados, presume-se que a exportação ocorreu imediatamente após a síntese de sacarose (figura 19-A).

Entre as 9:00 e 12:00h foi observado que as duas cultivares nos tratamentos estressados apresentaram taxas de assimilação entre 60 e 70% mais baixas do que aquelas observadas nos tratamentos controle, enquanto que entre as 12:00 e 18:00 as taxas foram reduzidas em 85%. Semelhantes taxas de exportação foram obtidas, para as duas cultivares, no período das 9:00 às 12:00h, enquanto que, entre as 12:00 e 15:00h a IAC 20 apresentou taxas de exportação superiores à IAC 13-1.

HUBER et al. (1984) demonstraram que as taxas de exportação de fotoassimilados, em soja sob estresse de água e enriquecimento de CO₂, dependeram das taxas de assimilação de carbono e da partição de carbono em sacarose, regulada pela atividade da sacarose-fosfato-sintase. Por outro lado, diversos autores, citados por DAIE (1988) observaram a manutenção de taxas de exportação em plantas estressadas, superiores a aquelas previstas em função de diminuídas taxas de assimilação. Aqueles autores relataram que a exportação de assimilados, em comparação com a expansão foliar, foi relativamente pouco afetada, e respondeu mais lentamente ao estresse de água.

DAIE (1988) mostrou que, com o estabelecimento do estresse de água, é possível que a exportação de sacarose decline quantitativamente em função de uma diminuição nos níveis de sacarose no *pool* de trans-

porte. Aquele autor, no entanto, acredita que a capacidade de exportação não seja o ponto limitante do processo.

6 - CONCLUSÕES

- As duas cultivares estudadas apresentaram desenvolvimento semelhante do sistema radicular, no que se refere à distribuição das raízes no perfil do solo. Como decorrência, é razoável admitir-se que o sistema radicular não deve ser responsável por eventuais diferenças do balanço hídrico observadas na parte aérea das duas cultivares.
- As alterações da expansão foliar condicionadas pelo déficit de água pareceu estar associada à influência do estado hídrico sobre a turgescência, e os seus efeitos no alongamento celular.
- O ensaio *in vivo* da atividade da redutase de nitrato parece ser um método sensível para a avaliação do efeito do estresse de água sobre o crescimento das plantas, constituindo-se em um parâmetro indicativo do nível geral do metabolismo na planta.
- Os experimentos envolvendo a Entrada em Défice, cuja duração foi relativamente pequena, pode ter induzido uma insuficiente expressão do ajustamento osmótico nas plantas das duas cultivares. O método osmométrico empregado para estimar Ψ_s forneceu valores de Ψ_p que podem ter sido sub-estimados à medida que Ψ_a diminuiu.
- As curvas pressão-volume mostraram-se eficientes como indicativas das alterações dos componentes do balanço hídrico nas folhas. Os resultados indicaram que as folhas da cultivar IAC 13-1 tem capacidade de suportar estresses mais prolongados, antes que as células atinjam o estado de plasmólise.
- A análise do aminoácidos isoleucina e valina apresentam o mesmo padrão de resposta à imposição do estresse hídrico, com crescentes aumentos de concentração sob condições de desidratação crescentes. O aumento da

concentração de metionina também pode ser indicativo de estresse hídrico nos tecidos vegetais.

- O ajustamento osmótico provavelmente ocorreu somente em função da concentração de solutos nas células. O aumento da concentração de prolina livre e açúcares, juntamente com a diminuição nos potenciais osmóticos, fortalecem a conclusão de que ocorreu ajustamento osmótico quando as plantas foram submetidas a déficit de água.
- A utilização das Curvas de Arrhenius permitiu avaliar alterações importantes que ocorreram no metabolismo das plantas sujeitas a estresse hídrico. A igualdade entre as temperaturas do ar e da folha podem ser indicação de restrição de água no tecido foliar.
- As várias avaliações biofísicas evidenciaram algumas diferenças no comportamento das plantas dos tratamentos controle e com estresse de água, mas não foram eficientes para discriminação do comportamento das duas cultivares.
- Não ocorreram diferenças significativas entre as duas cultivares com respeito ao padrão de recuperação da turgescência de plantas estressadas.
- A atividade fisiológica das folhas, representada pela TFL e ARN, parece ter sido reduzida quando o Ψ_a diminuiu a partir de -1,5 MPa, que coincidiu com CRA em torno de 0,75 e com Ψ_p igual a zero.
- A TFL constituiu-se em um parâmetro discriminador intervarietal em níveis decrescentes de Ψ_a , enquanto que CRA não foi eficiente para discriminar as cultivares. A maior produtividade da cultivar IAC 20 em relação à IAC 13-1, como descrita na literatura, pode ser justificada, entre outros parâmetros, pela maior capacidade de assimilação de C.
- A inibição da fotossíntese, que ocorre sob déficit hídrico, pode ter

ocorrido devido à ação do estresse sobre processos outros que não aqueles diretamente ligados à difusão de CO₂.

- A cultivar IAC 20 demonstrou maior adaptabilidade a condições limitantes de disponibilidade de água, comparada com a IAC 13-1, devido, principalmente, à eficiente recuperação da atividade da redução de nitrato, associada à recuperação da turgescência, e a maior capacidade de exportação de fotoassimilados nas folhas sob condições de estresse hídrico.

7 - RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar parâmetros fisiológicos para o estudo do desenvolvimento do algodoeiro sob condições de défices crescentes de água e durante o processo de recuperação da turgescência.

As duas cultivares utilizadas, IAC 13-1 e IAC 20, foram cultivadas em uma área com solo uniforme, e procedeu-se à coleta de raízes aos 40 e 80 dias após a emergência, destinadas ao estudo do crescimento e distribuição do sistema radicular sob condições normais de cultivo. As plantas representativas das duas cultivares apresentaram desenvolvimento semelhante do sistema radicular, no que se refere à distribuição das raízes no perfil do solo. Os dados obtidos mostram que o sistema radicular não deve ser responsável por eventuais diferenças do balanço hídrico observadas na parte aérea das duas cultivares.

Plantas das duas cultivares, cultivadas em casa-de-vegetação, foram submetidas, ao início do florescimento, a restrição de disponibilidade de água, procedendo-se à avaliação do crescimento foliar e do potencial da água na folha, antes do alvorecer. Através de ajuste matemático dos dados, verificou-se que a expansão foliar foi paralisada em Ψ_a na folha de -1,04 e -0,98 MPa, para as cultivares IAC 13-1 e IAC 20, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois materiais estudados.

Plantas nas mesmas condições de crescimento citadas acima também foram submetidas a estresse hídrico. Procedeu-se, diariamente, a medidas das taxas de fotossíntese líquida, determinações do potencial da

água e potencial osmótico, dos teores de açúcares e aminoácidos livres, e a análise da atividade da enzima redutase de nitrato. Os resultados mostraram um acúmulo de açúcares redutores e de prolina, durante o estabelecimento do estresse, indicando o desenvolvimento de ajustamento osmótico, o que ocorreu nas duas cultivares estudadas. Os aminoácidos isoleucina, valina e metionina apresentaram o mesmo padrão de resposta à imposição do estresse hídrico, com aumentos de concentração sob condições de desidratação crescente. O ensaio *in vivo* da atividade da redutase de nitrato mostrou uma grande sensibilidade para a avaliação do efeito do estresse de água sobre o crescimento das plantas. Ficou evidenciada a existência de uma relação exponencial entre a atividade da enzima e o potencial da água na folha. A TFL constituiu-se em um parâmetro discriminador intervarietal em níveis decrescentes de Ψ_a (IAC 20 mostrou-se mais eficiente), enquanto que os dados de CRA mostraram-se pouco significativos para a identificação da adaptabilidade ao estresse hídricos. A atividade fisiológica das folhas, representada pela TFL e ARN, aparentemente foi reduzida quando o Ψ_a diminuiu a partir de -1,5 MPa, que coincidiu com CRA em torno de 0,75 e com Ψ_p igual a zero.

Através das curvas pressão-volume foi possível demonstrar que as folhas da cultivar IAC 13-1 tem capacidade de suportar estresses mais prolongados, quando comparada com a IAC 20, sustentando a turgescência em potenciais hídricos mais baixos.

Outros grupos de plantas foram submetidos ao déficit hídrico, no estágio de início de formação de botão floral. As plantas foram deixadas desidratar até que o potencial hídrico da folha aproximou-se de -2,4 MPa, e a partir deste ponto as plantas foram irrigadas para permitir a recuperação da turgescência. Os resultados mostraram

alterações não significativas entre as duas cultivares com respeito ao padrão de recuperação da turgescência de plantas estressadas. A cultivar IAC 20 mostrou-se mais eficiente na recuperação da atividade da redutase de nitrato.

As várias avaliações biofísicas evidenciaram algumas diferenças no comportamento das plantas dos tratamentos controle e com estresse de água, mas não foram eficientes para discriminação do comportamento das duas cultivares.

As taxas de exportação de assimilados foram determinadas em folhas de plantas estressadas e normalmente irrigadas, pela diferença entre a assimilação líquida de carbono durante vários períodos do dia e a variação do conteúdo de carboidratos não-estruturais nas folhas, nos mesmos espaços de tempo.

Nos tratamentos com irrigação foi observado um aumento contínuo e constante nos níveis de amido das folhas, durante o período luminoso. Nos tratamentos em que as plantas foram submetidas ao estresse de água ocorreu queda do nível de amido no tecido foliar a partir do meio-dia, até a manhã seguinte. Foi observada maior acumulação de açúcares redutores nas folhas dos tratamentos com estresse hídrico das duas cultivares. No tratamento controle, as maiores taxas de exportação ocorreram entre as 12:00 e 15:00, com valores em torno de 85% do total de C fixado pelas duas cultivares. A cultivar IAC 20 demonstrou maior capacidade de exportação de fotoassimilados sob condições de estresse hídrico.

8 - LITERATURA CITADA

- ACKERSON, R.C. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress. II - Leaf carbohydrate status in relation to osmotic adjustment. *Plant Physiol.*, 67: 489-493.
- ACKERSON, R.C. 1985. Osmoregulation in cotton in response to water stress. *Plant Physiol.*, 77: 309-312.
- ACKERSON, R.C. e HEBERT, R.R. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress. I - Alterations in photosynthesis, leaf conductance, translocation and ultrastructure. *Plant Physiol.*, 67: 484-488.
- ACKERSON, R.C.; KRIEG, D.R.; HARING, C.L. e CHANG, N. 1977. Effects of plant water status on stomatal activity, photosynthesis and nitrate reductase activity of field grown cotton. *Crop Sci.*, 17:81-84.
- AUSTIN, R.B.; MORGAN, C.L. e FORD, M.A. 1986. Dry matter yields and photosynthetic rates of diploid and hexaploid *Triticum* species. *Ann. Bot.*, 57:847-857.
- BARNETT, N.M. e NAYLOR, A.W. 1966. Aminoacid and protein metabolism in Bermudagrass during water stress. *Plant Physiol.*, 41:1222-1230.
- BECKER, T.W. e FOCK, H.P. 1986. Effects of water stress on the gas exchange, the activities of some enzymes of carbon and nitrogen metabolism, and on the pool sizes of some organic acids in maize leaves. *Photosynthesis Res.*, 8:175-181.:
- BENSON, J.R. e HARE, P.E. 1975. *o*-phthalaldehyde: fluorogenic detection of primary amines in the picomole range. Comparison with fluorescamine and ninhydrin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 72:619-629
- BIELESKY, R.L. e TURNER, N.A. 1966. Separation and estimation of

- aminoacid in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *Anal. Biochem.*, 17:278-293.
- BIELORAI, H. e HOPMANS, P.A.M. 1975. Recovery of leaf water potential, transpiration and photosynthesis of cotton during irrigation cycles. *Agron. J.*, 67:629-632.
- BIELORAI, H.; MANTELL, A. e MORESHET, S. 1983. Water relations of cotton. In: T.T. Kozlowski (ed) *Water deficits and plant growth*. Academic Press, p.49-86.
- BLUM, A. e EBERCON, A. 1976. Genotype responses in sorghum to drought stress. III - Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Sci.*, 16:428-431.
- BOGGESE, S.F.; ASPINALL, D. e PALEG, L.G. 1974. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, s:-285.
- BOYER, J.S.; JOHNSON, R.R. e SAUPE, S. 1980. Afternoon water deficits and grain yields in old and new soybean cultivars. *Agron. J.*, 72:981-986.
- BREVEDAN, E.R. e HODGES, H.F. 1973. Effect of moisture deficits on ¹⁴C translocation in corn. *Plant Physiol.*, 52:436-439.
- BRYAN, J.K. 1980. Synthesis of the aspartate family and branched-chain amino acids. In: B.J.Mifflin (ed) *The Biochemistry of Plants*, Vol.5. Academic Press, p.403-452.
- BUNCE, J.A. 1977. Nonstomatal inhibition of photosynthesis at low water potentials in intact leaves of species from a variety of habitats. *Plant Physiol.*, 59:348-350.
- BUNCE, J.A. 1988. Differential responses of photosynthesis to water stress in three soybean cultivars. *Plant Physiol. Biochem.*, 26:415-420.
- CAMPBELL, W.H. 1988. Nitrate reductase and its role in nitrate

- assimilation in plants. *Physiol. Plant.*, 74:214-219.
- CAMPBELL, G.S.; PAPENDICK, R.I.; ROBIE, E. e SHAYO-NGOWI, A.J. 1979. A comparison of osmotic potential, elastic modulus, and apoplastic water in leaves of dryland winter wheat. *Agron. J.*, 71:31-36.
- CARAMORI, P.H. e FARIA, R.T. de. 1987. Frequencia de períodos de 10 dias consecutivos com deficiência hídrica (veranicos) para Londrina e Ponta Grossa. *Boletim Técnico*, 20. IAPAR. Londrina, 24p.
- CATALDO D.A.; HAROON, M.; SCHRADEV, L.E. e YOUNGS, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-80.
- CAVALERI, P.A.; GRIDI-PAPP, I.L.; FERRAZ, C.A.M.; FUZZATTO, M.G.; CIA, E.; SILVA, N.M.; NEVES, O.S.; SABINO, N.P.; LAZZARINI, J.F.; MARTINELLI, E.S. e CORRJA, F.A. 1975. Melhoramento das variedades paulistas de algodão. Criação da IAC 13-1. *Bragantia*, 34:203-217.
- CHANG, W.C. 1980. Starch depletion and sugars in developing leaves. *Plant Physiol.*, 65:844-847.
- CHEUNG, Y.N.S.; TYREE, M.T. e DAINITY, J. 1975. Water relations parameters on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological interpretations. *Can. J. Bot.*, 13:1342-1346.
- CHU, T.M.; ASPINALL, D. e PALLEG, L.G. 1974. Stress metabolism. VI - Temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1:87-97.
- CHU, T.M.; ASPINALL, D. e PALLEG, L.G. 1976. Stress metabolism. VII - Salinity and proline accumulation in barley. *Aust. J. Plant Physiol.*, 3:219-228.
- COCKING, E.C e YEMM, E.W. 1954. Estimation of amino acids by ninhydrin. *Biochem. J.*, 58:XII-XIII.

- CONAB. 1992. *Conjuntura Econômica*. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária. Informativo da Semana de 16/11 a 20/11/92. Ano II, número 39.
- CONAB. 1993a. *Conjuntura Agropecuária*. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária. Informativo da Semana de 22 a 26/03/93. Ano III, número 10.
- CONAB. 1993b. *Previsão e Acompanhamento de Safras*. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária. Acompanhamento da Safra 92/93. fev/93. Ano XVII, número 10.
- CONROY, J.P.; SMILLIE, R.M.; KUPPERS, M.; BEVEGE, D.I. e BARLOW, E.W.R. 1986. Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic and growth responses of *Pinus radiata* to phosphorus deficiency, drought stress and high CO₂. *Plant Physiol.*, 81:423-429.
- CORTES, P.M. e SINCLAIR, T.R. 1986. Water relations of field grown soybean under drought. *Crop Sci.*, 26:993-998.
- COSGROVE, D.J. 1988. In defense of the cell volumetric elastic modulus. *Plant Cell Environ.*, 11:67-69.
- CUTLER, J.M. e RAINS, D.W. 1977. Effects of irrigation history on responses of cotton to subsequent water stress. *Crop Sci.*, 17:329-335.
- CUTLER, J.M.; SHAHAN, K.W. e STEPONKUS, P.L. 1979. Characterization of internal water relations of rice by a pressure-volume method. *Crop Sci.*, 19:681-685.
- DAIE, J. 1988. Mechanism of drought-induced alterations in assimilate partitioning and transport in crops. *CRC - Critical Reviews in Plant Science*, 7:117-137.
- DELGADO. E.; PARRY, M.A.; LAWLOR, D.W.; KEYS, A.J. e MEDRANO, H. 1992. Effect of water stress on photosynthetic leaf characteristics and

- production of field-grown *Nicotiana tabacum* L. genotypes selected for survival at low CO₂. *J. Exp. Bot.*, 43:1001-1008.
- DOORENBOS, J. e KASSAN, A.H. 1979. Yield response to water. *Irrigation and Drainage Paper*, 33. Rome, 179p.
- EINERSSON, S.; JOSEFSSON, B. e LAGERKVIST, S. 1983. Determination of amino acids with 9-fluorenylmethyl chloroformate and reversed-phase High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.*, 282:609-618.
- EVANS, R.D.; BLACK, R.A.; LOESCHER, W.H. e FELLOWS, R.J. 1992. Osmotic relations of the drought-tolerant shrub *Artemisia tridentata* in response to water stresses. *Plant Cell Environ.*, 15:49-59.
- FISCHER, R.A.; BIDINGER, F.; SYME, J.R. e WALL, P.C. 1981. Leaf photosynthesis, leaf permeability, crop growth and yield of short spring wheat genotypes under irrigation. *Crop Sci.*, 21:367-373.
- FLOWER, D.J. e LUDLOW, M.M. 1986. Contribution of osmotic adjustment to the dehydration tolerance of water-stressed pigeonpea leaves. *Plant Cell Environ.*, 9:33-40.
- FOLHA DE LONDRINA 1993. Crise exige medidas de emergência. *Folha Economia*, Editoria de Agropecuária. 28/02/93, p.4.
- FOX, T.C. e GEIGER, D.R. 1985. Effects of decreased net carbon exchange on carbohydrate metabolism in sugar beet source leaves. *Plant Physiol.*, 76:763-768.
- GERMA, F.S. e KRIEG, D.R. 1992-a. Osmotic adjustment in sorghum. I - Mechanisms of diurnal osmotic potential changes. *Plant Physiol.*, 99:577-582.
- GERMA, F.S. e KRIEG, D.R. 1992-b. Osmotic adjustment in sorghum. II - Relationship to gas exchange rates. *Plant Physiol.*, 99:583-588.

- GIMENEZ, C.; MITCHELL, V.J. e LAWLOR, D.W. 1992. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiol.*, 98:516-524.
- GRIDI-PAPP, I.L.; FUZZATTO, M.G.; CAVALERI, P.A.; CIA, E.; SILVA, N.M.; FERRAZ, C.A.M.; SCHMIDT, W.; NEVES, O.S.; RODRIGUES, F.S.O.R.; CHIAVEGATO, E.J.; SABINO, N.P.; MARTINELLI, E.S.; LAZZARINI, J.F.; CORREA, F.A. e GROSSI, J.M.M. 1984. Melhoramento do algodoeiro no Estado de São Paulo: obtenção das variedades IAC RM3, IAC RM4, IAC 16 e IAC 17. *Bragantia*, 43:405-423.
- GRIDI-PAPP, I.L.; CIA, E.; FUZZATTO, M.G.; SILVA, N.M.; FERRAZ, C.A.M.; CARVALHO, N.; CARVALHO, L.H.; SABINO, N.P.; KONDO, J.I.; PASSOS, S.M. G.; CHIAVEGATO, E.J.; CAMARGO, P.P. e CAVALERI, P.A. 1992. Planejamento da Cultura. In: Manual do produtor de algodão. São Paulo: Bolsa de Mercadorias & Futuros. 158p.
- GUINN, G. 1976. Water deficit and ethylene evolution by young cotton bolls. *Plant Physiol.*, 57::403-405.
- GUPTA, A.S e BERKOWITZ, G.A. 1987. Osmotic adjustment, symplast volume, and non-stomatally mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.*, 85:1040-1047.
- HANDEL, E.V. 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Anal. Biochem.* 23:280-283.
- HANSON, A.D. e HITZ, W.D. 1982. Metabolic responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33:163-303.
- HANSON, A.D.; NELSEN, C.E. e EVERSON, E.A. 1977. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Sci.*, 17:720-726.
- HARTT, C.E. 1967. Effect of moisture supply on translocation and storage of ^{14}C in sugarcane. *Plant Physiol.*, 42:338-346.

- HEARN, A.B. e CONSTABLE, G.A. 1984. Cotton. In: P.R. Goldsworthy e N.M. Fisher (Eds) The physiology of tropical food crops. John Wiley e Sons, Ltd. p.495-527.
- HENDRIX, D.L. e HUBER, S.C. 1986. Diurnal fluctuations in cotton leaf carbon export, carbohydrate content, and sucrose synthesizing enzymes. *Plant Physiol.*, 81:584-586.
- HENSON, I.E. 1982. Osmotic adjustment to water stress in pearl millet in a controlled environment. *J. Exp. Bot.* 33:78-83.
- HEUER, B.; PLAUT, N. e FEDERMAN, E. 1979. Nitrate and nitrite reduction in wheat leaves as affected by different types of water stress. *Physiol. Plant.*, 46:318-323.
- HILL, R.E. 1992. *Crop Physiology Abstracts*. August 1992, 18(8), p.454.
- HINCKLEY, T.M.; DUHME, F.; HINCKLEY, A.R. e RICHTER, H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant Cell Environ.*, 3:131-138.
- HINCKLEY, T.M.; DUHME, F.; HINCKLEY, A.R. e RICHTER, H. 1983. Drought relations of shrub species: assessment of the mechanisms of drought resistance. *Oecologia* 59:344-350.
- HOBBS, S.L.A. e MAHON, J.D. 1985. Inheritance of chlorophyll content, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity and stomatal resistance in peas. *Crop Sci.*, 25:1031-1034.
- HSIAO, T.C.; OLIVEIRA Jr., E.C. e HALL, W.M. 1978. Adaptation of cotton leaves to water stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, 7:181-192.
- HUBER, S.C.; ROGERS, H.H. e MOWRY, F.L. 1984. Effects of water stress on photosynthesis and carbon partitioning in sorghum plants grown in the field at different CO₂ levels. *Plant Physiol.*, 76:244-249.
- HUFFAKER, R.C.; RADIN, T.; KLEINKOPF, G.E. e COX, E.L. 1970. Effects of

- mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of carboxylative phase of photosynthesis in barley. *Crop Sci.*, 10:471-474.
- INFORZATO, R. e FUZZATTO, M.G. 1967 . Estudo comparativo de transpiração em tres variedades paulistas de algodoeiro. *Bragantia*, 26:59-61.
- IRIGOYEN, J.J.; EMERICH, D.W. e SÁNCHEZ-DÍAZ, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa plants. *Physiol. Plant.*, 84:55-60.
- IZHAR, S. e WALLACE, D.H. 1967. Studies of the physiological basis for yield differences. III- Genetic variation in photosynthetic efficiency of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci.*, 7:457-460.
- JARRETT, H.W.; COOKSY, K.D.; ELLIS, B. e ANDERSON, J.M. 1986. The separation of *o*-phthalaldehyde derivatives of amino acids by reversed-phase chromatography on octylsilica column. *Anal. Biochem.* 153:189-198.
- JOHNSON, R.C.; NGUYEN, H.T. e CROY, L.I. 1984, Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.*, 24:957-962.
- JOHNSON, R.R. e MOSS, D.N. 1976. Effect of water stress on ¹⁴CO₂ fixation and translocation in wheat during grain filling. *Crop Sci.* 16:697-801.
- JONES, M.M. e TURNER, N.C. 1978. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiol.*, 61:122-126.
- JONES, M.M. e RAWSON, H.M. 1979. Influence of rate of development of leaf water deficits upon photosynthesis, leaf conductance, water use efficiency and osmotic potential in sorghum. *Physiol. Plant.*, 45:103-111.
- JONES, M.M. e TURNER, N.C. 1980. Osmotic adjustment in expanding and

- fully expanded leaves of sunflower in response to water deficits. *Aust. J. Plant Physiol.*, 7:181-192.
- JONES, M.M.; OSMOND, C.B. e TURNER, N.C. 1980. Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Aust. J. Plant Physiol.* 7:193-205.
- JONES, M.M.; TURNER, N.C. e OSMOND, C.B. 1981. Mechanisms of drought resistance. In: L.G.Paleg & D.Aspinall (Eds) *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press, p.15-37.
- JORDAN, W.R. 1983. Cotton. In: I.D. TEARE e M. PEET (Eds) *Crop-water relations*. John Wiley & Sons Inc., p.214-253.
- KALT-TORRES, W. e HUBER, S.C. 1987. Diurnal changes in maize leaf photosynthesis. III - Leaf elongation rate in relation to carbohydrates and activation of sucrose metabolizing enzymes in elongating leaf tissue. *Plant Physiol.*, 83:294-298.
- KALT-TORRES, W.; KERR, P.S.; USUDA, H. e HUBER, S.C. 1987. Diurnal changes in maize leaf photosynthesis. I - Carbon exchange rate, assimilate export rate, and enzyme activities. *Plant Physiol.*, 83:283-288.
- KARAMANOS, A.J.; DROSSOPOULOS, J.B. e NIAVES, C.A. 1983. Free proline accumulation during development of two wheat cultivars with water stress. *J. Agric. Sci.*, 100:429-439.
- KASPAR, T.C.; TAYLOR, H.M. e SHIBLES, R.M. 1984. Tap-root elongation rates of soybean cultivars in the glasshouse and their relation to field rooting depth. *Crop Sci.*, 24:916-920.
- KASSAM, A.H. e ELSTON, J.V. 1974. Seasonal changes in the status of water and tissue characteristics of leaves of *Vicia faba* L. *Ann.*

- Bot., 38:419-429.
- KEMBLE, A.R. e MacPHERSON, H.T. 1954. Nitrogen metabolism of wilting ryegrass. *Biochem. J.* 58:46-49.
- KOSHKIN, E. e TRETIAKOV, N. 1990. Gas exchange measurements required to predict the newly fixed carbon pool size in a source leaf of corn. *Plant Cell Environm.* 13:147-153.
- KRAMER, P.J. 1988-a. Measurement of plant water status: historical perspectives and current concerns. *Irrig. Sci.* 9:275-287.
- KRAMER, P.J. 1988-b. Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell Environ.*, 11:565-568.
- LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. London, Academic Press, 607 p.
- LEVY, D. 1983. Water deficit enhancement of proline and *alpha*-amino nitrogen accumulation in potato plants and its association with susceptibility to drought. *Physiol. Plant.*, 57:169-173.
- MANAM, R.; TEARE, I.D.; POWERS, W.L. e SKIDMORE, E.L. 1977. Nitrate reductase activity of soybeans in relation to other indicators of water stress. *Phyton*, 35:189-194.
- MARUR, C.J. 1991. Comparação das taxas de fotossíntese líquida, resistência estomática e produtividade de duas cultivares de algodoeiro submetidas ao estresse hídrico. *Pesq. Agropec. Bras.*, 26:153-161.
- McCREE, K.J. e DAVIES, S.D. 1974. Effect of water stress and temperature on leaf size and on size and number of epidermal cells in grain sorghum. *Crop Sci.*, 14:751-755.
- McCREE, K.J.; KALLSEN, C.E. e RICHARDSON, S.G. 1984. Carbon balance of sorghum plants during osmotic adjustment to water stress. *Plant Physiol.*, 76:898-902.

- McMICHAEL, B.L.; JORDAN, W.R e POWELL, R.D. 1972. An effect of water stress on ethylene production by intact cotton petioles. *Plant Physiol.*, 49:658-660.
- McPHERSON, H.G. e BOYER, J.S. 1977. Regulation of grain yield by photosynthesis in maize subjected to a water deficiency. *Agron. J.*, 69: 714-718.
- MEGURO, N.E. e MAGALHÃES, A.C. 1983. Water stress affecting nitrate reduction and leaf diffusive resistance in *Coffea arabica* L. cultivars. 1983. *J. Hort. Sci.*, 58:147-152.
- MEIER, C.E.; NEWTON, R.J.; PURYEAR, J.D. e SEN, S. 1992. Physiological responses of loblolly pine seedlings to drought stress: osmotic adjustment and tissue elasticity. *J. Plant Physiol.*, 140:754-760.
- MEINZER, F.C.; RUNDEL, P.W.; SHARIFI, M.R. e NIELSEN, E.T. 1986. Turgor and osmotic relations of the desert shrub *Larrea tridentata*. *Plant Cell Environ.*, 9:467-475.
- MELKONIAN, J.J.; WOLFE, J. e STEPONKUS, P. 1982. Determination of the volumetric modulus of elasticity of wheat leaves by pressure-volume relations and the effect of drought conditioning. *Crop Sci.*, 22:116-123.
- MORILLA, C.; BOYER, J.S. e HAGEMAN, R.H. 1973. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn having low leaf water potential. *Plant Physiol.*, 51:817-824.
- MOSQUIM, P.R. e SODEK, L. 1992. Partitioning of nitrogen in soybean fruit explants cultured with glutamine, asparagine or allantoin. *Plant Physiol. Biochem.*, 30:451-457.
- MUNNS, R. e PEARSON, C.J. 1974. Effect of water deficit on translocation of carbohydrate in *Solanum tuberosum*. *Aust. J. Plant Physiol.*,

1:529-537.

- MUNNS, R. e WEIR, R. 1981. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanding zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.*, 8:93-105.
- MYERS Jr., O.; YOPP, J.H. e KRISHNAMANI, M.R.S. 1986. Breeding soybeans for drought resistance. In: *Plant Breeding Reviews*, Vol.4, AVI Publishing Co. p.203-243.
- NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, M.F. e IZZO, R. 1990. Water-stress induced changes in protein and free amino acids in field-grown maize and sunflower. *Plant Physiol. Biochem.*, 28:531-537.
- NELSON, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153:375-380.
- NETER, J. e WASSERMAN, W. 1974. Topics in Regression Analysis - In: *Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and experimental designs*. R.D. Irwin Inc., p.140-213.
- NEVES, O. da S. 1965. O algodão no mundo. In: Instituto Brasileiro de Potassa (Ed) *Cultura e adubação do algodoeiro*. p. 13-53.
- NON-MEYER, I. e GINZBURG, B.Z. 1969. An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. II - Comparative studies in leaves of different types. *Aust. J. Biol. Sci.*, 22:35-52.
- PALEG, L.G.; DOUGLAS, T.J.; VAN DAAL, A. e KEECH, D.B. 1981. Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Aust. J. Plant Physiol.*, 8:107-112.
- PAVILK, B.M. 1984. Seasonal changes of osmotic pressure, symplastic water content and tissue elasticity in the blade of dunes grasses growing in situ along the coast of Oregon. *Plant Cell Environ.*, 7:531-539.

- PEREIRA, A.R. e ARRUDA, H.V. 1987. Ajuste pratico de curvas na pesquisa biológica. Campinas. Fundação Cargill, 50p.
- PLAUT, Z. 1973. The effect of soil moisture tension and nitrogen supply on nitrate reduction and accumulation in wheat seedlings. *Plant Soil*, 38:81-84.
- PLAUT, J.R. e FEDERMAN, E. 1991. Acclimation of CO₂ assimilation in cotton leaves to water stress and salinity. *Plant Physiol.*, 97:515-522.
- QUISENBERRY, J.E.; WENDT, C.W.; BERLIN, J.D. e McMICHAEL, B.L. 1985. Potential for using leaf turgidity to select drought tolerance in cotton. *Crop Sci.*, 25::294-298.
- RADIN, J.W. 1974. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. *Plant Physiol.*, 53:458-463.
- RAJAGOPAL, V.; BALASUBRAMANIAN, V. e SINHA, S.K. 1977. Diurnal fluctuations in relative water content, nitrate reductase and proline content in water-stressed and non-stressed wheat. *Physiol. Plant.*, 40: 69-71.
- RASCHKE, K. 1975. Stomatal action. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 26:309-340.
- RICHARDSON, S. e McCREE, K.J. 1985. Carbon balance and water relation of sorghum exposed to salt and water stress. *Plant Physiol.*, 79:1015-1020
- RIAZI, A.; MATSUDA, K. e ARSLAN, A. 1985. Water stress-induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. *J. Exp. Bot.*, 36:1716-1725.
- ROUTLEY, D.G. 1966. Proline accumulation in wilted ladino clover leaves. *Crop Sci.*, 6:358-361.

- SAIRAM, R.K. e DUBE, S.D. 1984. Effect of moisture stress on nitrate reductase activity in rice in relation to drought tolerance. *Ind. J. Plant Physiol.*, 27:264-270.
- SCHOBERT, B. 1977. Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher plants? *J. Theor. Biol.* 68:17-26.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T., HEMMINGSEN, E.A. e BRADSTREET, E.D. 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 52:119-125.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D. e HEMMINGSEN, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148:339-346.
- SCHONFELD, M.A.; JOHNSON, R.C.; CARVER, B.F. e MORHINWEG, D.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci.*, 28:526-531.
- SCHULZE, E.D. 1986. Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 37:247-274.
- SHANER, D.L. e BOYER, J.S. 1976. Nitrate reductase activity in maize leaves. II- Regulation by nitrate flux at low leaf water potential. *Plant Physiol.*, 58:505-509.
- SILVA, J.V.da; NAYLOR, A.W. e KRAMER, P.J. 1974. Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton leaves. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 71:3243-3247.
- SINCLAIR, T. R. e LUDLOW, M.M. 1985. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Aust. J. Plant Physiol.*, 12:213-217.
- SINGH, T.N.; PALLEG, L.G. e ASPINALL, D. 1973. Stress metabolism. I - Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water

- stress. *Austr. J. Biol. Sci.*, 26:45-56.
- SINHA, S.K. e NICHOLAS, D.J.D. 1981. Nitrate Reductase. In: L. G. Paleg e D. Aspinall (Eds) *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press, New York. p.145-168.
- SOMOGYI, M. 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 195:19-23.
- SOUZA, J.G.; BARROS, A.C.Q.T. e SILVA, J.V. da. 1983. Reservas de hidratos de carbono e resistência do algodoeiro à seca. *Pesq. Agropec. Bras.*, 18:269-273.
- SRIVASTAVA, H.S. 1980. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phytochemistry*, 19:725-731.
- STEWART, C.R. 1971. Effect of wilting on carbohydrates during incubation of excised bean leaves in the dark. *Plant Physiol.*, 48:792-794.
- STEWART, C.R. 1972. The effect of wilting on proline metabolism in excised bean leaves in the dark. *Plant Physiol.*, 51:508-511.
- STEWART, C.R.; BOGGESS, S.F. 1978. Metabolism of [5-³H] proline by barley leaves and its use in measuring the effects of water stress on proline oxidation. *Plant Physiol.*, 61:654-657.
- STEWART, C.R. e LARHER, F. 1980. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: B.J.Mifflin (Ed) *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*, Vol.5. Academic Press, New York, p.609-635.
- STEWART, C.R.; BOGGESS, S.F.; ASPINALL, D. e PALEG, L.G. 1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, 59:930-932.
- STEWART, C.R. e LEE, J.A. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120:279-289.

- SUNG, F.J.M. e KRIEG, D.R. 1979. Relative sensitivity of photosynthetic assimilation and translocation of 14 carbon to water stress. *Plant Physiol.*, 64:852-856.
- TEARE, I.D.; MANAM, R. e KANEMASU, E.T. 1974. Diurnal and seasonal trends in nitrate reductase activity in field grown plants. *Agron. J.*, 66:733-736.
- TULLY, R.E.; HANSON, A.D. e NELSEN, C.E. 1979. Proline accumulation in water stressed barley leaves in relation to translocation and the nitrogen budget. *Plant Physiol.*, 63:518-523.
- TURNER, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*. 58:339-366.
- TURNER, N.C. 1985. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 13:175-190.
- TURNER, N.C. 1986. Crop water deficits: a decade of progress. *Adv. Agron.*, 39:1-51.
- TURNER, N.C. 1988. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrig. Sci.*, 9:289-308.
- TURNER, N.C. e JONES, M.M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: N.C.Turner e P.J.Kramer (Eds) *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. John Wiley e Sons. Chichester. p. 87-103.
- TURNER, N.C.; BEGG, J.E.; RAWSON, H.M.; ENGLISH, S.D. e HEARN, A.B. 1978-a. Agronomic and physiological responses of soybean and sorghum crops to water deficits. III - Components of leaf water potential, leaf conductance, $^{14}\text{CO}_2$ photosynthesis and adaptation to water deficit. *Aust. J. Plant Physiol.*, 5:169-173.
- TURNER, N.C.; BEGG, J.E. e TONNET, M.L. 1978-b. Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops to water deficits and its influence on

- the water potential at which stomata close. *Aust. J. Plant Physiol.*, 5:597-608.
- TURNER, N.C; STERN, W.R. e EVANS, P. 1987. Water relation and osmotic adjustment of leaves and roots of lupins in response to water deficits. *Crop Sci.*, 27:977-983.
- TYREE, M.T. 1976. Negative turgor pressure in plant cells: fact or fallacy? *Can. J. Bot.* 54:2738-2746.
- TYREE, M.T. e HAMMEL, H.T. 1972. The measurement of turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *J. Exp. Bot.*, 23:267-282.
- UMBREIT, W. W.; BURRIS, R.H. e STAUFFER, J.E. 1957. *Manometric Techniques*. New York. Burgess Publishing Co. 338p.
- van VOLKENBURGH, E. e CLELAND, R.E. 1984. Control of leaf growth by changes in all properties. *Physiol. Plant.* 15:25-28.
- van KRAALINGEN, D.W.G. 1990. Implication of non-uniform stomatal closure on gas exchange calculations. *Plant Cell Environ.*, 13:1001-1004.
- VENIKAMP, J.H. 1989. Regulation of cytosol acidity in plants in plants under conditions of drought. *Physiol. Plant.*, 76:112-117.
- VENIKAMP, J.H.; LAMPE, J.E.M. e KOOT, J.T.M. 1989. Organic acid as sources for drought-induced proline synthesis in field bean plants, *Vicia faba*. *J. Plant. Physiol.*, 133:654-659.
- WARDLAW, I.F. 1969. The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth. II - Effect during leaf development in *Lolium temulentum* L. *Aust. J. Biol. Sci.*, 22:1-16.
- WEATHERLEY, P.E. 1980. Studies in the water relations of the cotton plant. I - The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytol.* 50:36-42.

- WENKERT, W. 1980. Measurement of tissue osmotic pressure. *Plant Physiol.*, 65:614-617.
- WILSON, J.R.; LUDLOW, M.M.; FISCHER, M.J. e SCHULZE, E.D. 1980. Adaptation to water stress of the leaf water relations of four tropical forage species. *Aust. J. Plant Physiol.*, 7:207-220.
- WONG, S.C.; COWAN, I.R. e FARQUHAR, G.D. 1985. Leaf conductance in relation to rate of CO₂ assimilation. III- Influence of water stress and photoinhibition. *Plant Physiol.*, 78:830-834.
- YANG, S.F. e HOFFMANN, N.E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35:155-189.
- YEMM, C.W. e WILLIS, A.J. 1954. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.*, 57:508-514.
- ZAGDANSKA, B. 1984. Influence of water stress upon photosynthetic carbon metabolism in wheat. *J. Plant Physiol.*, 116:153-160.
- ZRENNER, R. e STITT, M. 1991. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. *Plant Cell Environ.*, 14:939-946.
- ZULLO Jr., J. e ARRUDA, F.B. 1986. Programa computacional para ajuste de equações em dados experimentais. Campinas, Instituto Agronômico, Boletim Técnico 113. 23p.