

**BASES MORFO-FISIOLÓGICAS DA RESISTÊNCIA
À SECA DO AMENDOIM. UM CONTRIBUTO**

Joaquim Augusto Lauriano

Dissertação apresentada à
Universidade de Évora para a
obtenção do grau de Doutor
em Ciências do Ambiente

**Évora
2000**

**BASES MORFO-FISIOLÓGICAS DA RESISTÊNCIA
À SECA DO AMENDOIM. UM CONTRIBUTO**

Joaquim Augusto Lauriano

Dissertação apresentada à
Universidade de Évora para a
obtenção do grau de Doutor
em Ciências do Ambiente

Évora
2000



122 650

ERRATA

Pág.	Linha	Onde se lê	Deve-se ler
		inclen-se	incluem-se
I	6	l'arachide	l'arachide
II	7	com apoio	com o apoio
VI	2	fluorescência	fluorescência da clorofila <u>a</u>
VI	15	Agrário	Agrários
VI	18	Técnicos	Técnico
XI	23	65-55%	65-45%
XVII	6	and	e
XVII	19	em	um
XVIII	4	actividade da rubisco	actividade carboxilativa total da rubisco
XVIII	20	nas concentrações	e nas concentrações
XVIII	20	PQ	PQ-9
XIX	1	flourescência	fluorescência
XX	18	análise algo	análise, inferir algo
XXIX	13	lipid concentration	lipid stability concentration
16	24	eficiência quântica	eficiência quântica aparente
28	5	60°C	80°C
57	1	estomáticar	estomática
57	17	$RWC=(P_r-P_s)/(P_r-P_s) \times 100$	$RWC=[(P_r-P_s)/(P_r-P_s)] \times 100$
61	20	60%	70%
97	7	caule	-
100	10	Dordretch	Dordrecht
100	10	England	Netherlands
131	6	6,4	6,1
136	2	200 ml	200 µl
170	11	depósito	sobrenadante



Tab. 2.4 Evolução da duração da área foliar (LAD, $\text{dm}^2 \text{ dia}$), taxa de assimilação aparente (NAR, $\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e da taxa de crescimento relativo (RGR, $\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) ao longo do ciclo cultural (entre os 30 e 40 dias e entre os 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas). Cada valor representa a média \pm SE ($n=3-5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os intervalos de tempo antes mencionados, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs., para os parâmetros respectivos.

		Dias após a repicagem das plântulas	
Cv.		30-40	40-70
57-422	LAD	15,2 \pm 1,5 ^(b;r)	96,2 \pm 7,5 ^(a;r)
	NAR	10,9 \pm 1,3 ^(a;r)	7,1 \pm 0,4 ^(b;r)
	RGR	101 \pm 10,9 ^(a;r)	50 \pm 9,7 ^(b;r)
73-30	LAD	13,3 \pm 0,9 ^(b;r)	58,0 \pm 4,7 ^(a;t)
	NAR	3,7 \pm 0,7 ^(a;s)	5,2 \pm 0,7 ^(a;rs)
	RGR	32 \pm 4,1 ^(a;t)	33 \pm 4,0 ^(a;r)
GC 8-35	LAD	14,8 \pm 0,5 ^(b;r)	76,1 \pm 3,2 ^(a;s)
	NAR	6,6 \pm 1,0 ^(a;s)	3,8 \pm 0,5 ^{(b;s)6}
	RGR	65 \pm 10,6 ^(a;s)	30 \pm 8,5 ^(a;r)

Tab. 4.2 Efeitos da seca sobre a razão de área foliar (LAR, $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$), taxa de assimilação aparente (NAR, $\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), taxa de crescimento relativo (RGR, $\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$), duração da área foliar (LAD, $\text{dm}^2 \text{ dia}$) e a produção total de matéria seca (TDM, g). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.	Tratamento	LAR	NAR	RGR	LAD	TDM
57-422	C	71 \pm 3 ^(a;r)	7,1 \pm 0,4 ^(a;r)	50 \pm 1 ^(a;r)	96 \pm 8 ^(a;r)	6,5 \pm 0,36 ^(a;r)
	S	56 \pm 0 ^(b;s)	3,5 \pm 0,1 ^(b;r)	20 \pm 4 ^(b;r)	65 \pm 2 ^(b;r)	4,4 \pm 0,0 ^(b;r)
73-30	C	62 \pm 5 ^(b;s)	5,2 \pm 0,7 ^(a;rs)	33 \pm 4 ^(a;r)	58 \pm 5 ^(a;t)	4,0 \pm 0,3 ^(a;s)
	S	73 \pm 3 ^(a;r)	3,7 \pm 0,0 ^(b;r)	27 \pm 6 ^(a;r)	57 \pm 3 ^(a;r)	3,4 \pm 0,2 ^(a;s)
GC 8-35	C	80 \pm 4 ^(a;r)	3,8 \pm 0,5 ^(a;s)	30 \pm 9 ^(a;r)	76 \pm 3 ^(a;s)	3,9 \pm 0,1 ^(a;s)
	S	82 \pm 1 ^(a;r)	3,1 \pm 0,1 ^(a;r)	25 \pm 4 ^(a;r)	73 \pm 4 ^(a;r)	3,7 \pm 0,2 ^(a;s)



DECLARAÇÃO

Na presente dissertação incluem-se resultados que foram alvo de publicação em colaboração com Maria do Céu Matos, F.C. Lidon, Paula Scotti Campos, J.C. Ramalho, C.A. Santiago e M.E. Guedes.

Para efeitos do disposto no nº2 do Art. 8º do decreto-Lei 388/70, o autor da dissertação declara que interveio na concepção e execução do trabalho experimental, na interpretação dos resultados e na redacção dos manuscritos enviados para publicação.

Julho de 2000

Joaquim Augusto Lauriano

À Alice e à Esperança

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto de um esforço partilhado por várias pessoas.

Aos nossos orientadores, Prof. Catedrático Tomaz Moreira (do Departamento de Ecologia da Universidade de Évora) e Doutora Maria do Céu Matos (chefe do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional e responsável pela parte portuguesa no projecto internacional “Amelioration génétique de l’adaptation à la sécheresse de l’arachide, TS3-CT-0216”, no âmbito do qual se realizou a nossa Tese), agradecemos o facto de terem aceite orientar a nossa Tese, a confiança em nós depositada assim como a liberdade concedida na escolha do tema e no desenvolvimento das várias actividades realizadas no âmbito da nossa Tese.

Particularizando, os nossos agradecimentos ao Prof. Tomaz Moreira que, por via do seu grande amor por Angola, nos apoiou e incentivou desde o primeiro instante. Agradecemos-lhe, a amizade, pois o que começou como um debate científico sobre a

problemática da seca tão logo se transformou também numa sólida amizade, assente num profundo respeito e que se estendeu às nossas famílias. Agradecemos-lhe também as longas conversas e discussões sobre os mais diferentes temas (ecofisiologia, fisiologia dos ecossistemas, agricultura comparada, ecologia da produção agro-pecuária, etc.), dos quais colhemos ensinamentos que foram preciosos para o desenvolvimento dos nossos trabalhos. Agradecemos-lhe ainda o papel imprescindível e decisivo que tem tido na nossa inserção profissional assim como apoio moral e afectivo e aqui os agradecimentos são extensíveis a sua família, no seio da qual fui e tenho sido acolhido como um filho. Senhor Professor, poderíamos continuar a citar o que em vós admiramos e aprendemos, porém corríamos o risco de jamais acabar. Por isso terminamos já com apenas mais duas palavras: estamos agradecidos.

À Doutora Maria do Céu Matos, agradecemos-lhe pela maneira amiga, afectuosa e plena de desvelo com que orientou a nossa Tese. Não esquecemos de quão decisivo foi o vosso papel. A Doutora Maria do Céu Matos foi pragmática, estabeleceu metas, imprimiu uma certa dinâmica, incentivou-nos, factos que foram com efeito as premissas básicas para levar o trabalho a bom termo. A Doutora Maria do Céu Matos foi dos dois orientadores aquele que mais de perto desempenhou a sua função, portanto agradecemos-lhe a sua presença constante e fraterna assim como a sua prestimosa disponibilidade para o desenvolvimento de todas as fases da nossa Tese, muitas vezes em detrimento de outras tarefas importantes para o seu próprio bem pessoal. Agradecemos-lhe também a forma enérgica e abnegada das suas intervenções, as palavras de encorajamento e motivação em momentos cruciais. Agradecemos-lhe ainda a orientação científica e técnica, a leitura pormenorizada e a discussão acesa do manuscrito. Finalmente agradecemos-lhe o empenho

colocado na nossa evolução científica, esclarecendo dúvidas, indicando bibliografia, ensinando metodologias assim como incentivando a nossa participação em vários eventos científicos, para cuja viabilização a Doutora Maria do Céu Matos teve luta árdua para ultrapassar certos aspectos burocráticos. Doutora Céu e sua família, mais uma vez os nossos agradecimentos.

Aos sucessivos Chefes do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional, agradecemos o facto de nos terem permitido dispor do departamento. E neste espaço gostaríamos de deixar expresso o nosso profundo reconhecimento a Doutora Maria da Graça Barreiro e sua família pela amizade, incentivo e resolução de vários problemas de natureza burocrática.

Aos Engenheiros Doutel Serafim (do INIA) e Soveral Dias (do Laboratório Rebelo da Silva), agradecemos o vosso sentido filantrópico, o grande amor que nutrem por Angola e o grande apoio que têm prestado a formação pós-graduada de profissionais oriundos dos PALOP, em particular Angola, de que nós somos apenas um exemplo. O nosso muito obrigado.

Ao Institute Sénégalais de Reserche Agronomique, agradecemos o facto de nos ter facultado, sempre que necessário e com grande prontidão, as sementes das cvs. estudadas.

Ao meu primo e amigo Engenheiro Agrónomo Manuel de Almeida Mateus Dias (Director do Instituto Nacional do Café de Angola), agradecemos-lhe as longas horas de conversa sobre os problemas do desenvolvimento dos Países em vias de Desenvolvimento, em particular Angola, ainda mesmo durante a nossa vida no Huambo como estudantes na Faculdade de Ciências Agrárias e depois já como profissionais de Agronomia. Foi como resultado destas conversas que cada um de nós traçou o seu rumo, que de diferente só tem

uma coisa, o objecto de estudo, já que a investigação, a identificação dos pontos de estrangulamento e o contorno dos mesmos, constituem afinal de contas os alicerces das nossas actividades. Caro Manuel Dias, destas conversas, que tiveram grande influência na escolha do tema da nossa tese, bebemos também parte do seu pragmatismo e da sua grande capacidade de organização, por isso mais uma vez, caro primo e amigo Manuel Dias, os nossos agradecimentos.

Também não nos podemos olvidar e com poderosa razão das influências que recebemos do Professor Doutor Eduardo Ortega (Chefe do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade de Havana). O marco importante desta influência remonta ao tempo em que fomos vosso Monitor na disciplina de Fisiologia Vegetal e posteriormente como orientando no trabalho de fim de curso na nossa dilecta F.C.A (Faculdade de Ciências Agrárias no Huambo) e num estágio em Cuba. Estávamos no início de uma carreira, por vossa total aposta e confiança, factos que por si só bastariam os nossos agradecimentos. Contudo não podemos deixar de agradecer-lhe os vários ensinamentos que da vossa diáfana sabedoria bebemos, a orientação providencial numa altura, em que às apalpadelas, procurávamos um rumo. De vós, caro Prof. Eduardo Ortega, entre outras coisas, bebemos a ideia do “Amarantos”, cuja importância alimentar e resistência a factores adversos inspirou a nossa Tese, aproveitamos as bases da análise de crescimento e incorporamos a necessidade do intercâmbio científico, o qual no caso dos nossos dois países a guerra se encarregou de lhe dar a machadada fatal (desculpe-nos o pessimismo). Prof. Eduardo Ortega, por tudo isto assim como pela amizade, elevada estima e consideração com que fomos tratado por vós, sua querida família e os trabalhadores do vosso Departamento, os nossos agradecimentos para todos.

Os nossos agradecimentos ao Prof. Doutor Fernando Lidon (da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa), ao Doutor José Domingos Cochicho Ramalho (do Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícolas do Instituto de Investigação Científica Tropical) e ao Engenheiro Técnico Agrário Carlos Santiago (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional). Amigos, o que seria de nós sem a vossa prestimosa ajuda. Vós fostes de facto, em primeiro lugar, grandes amigos, aqueles que estão presentes quando precisamos de todos e ninguém está. A vossa acção não se restringiu aos cantos e recantos da Estação Agronómica Nacional, ela extravasou-se também para as várias actividades do nosso quotidiano.

Ao Prof. Fernando Lidon, agradecemos-lhe também o facto de nos ter permitido materializar um sonho antigo: fazer um incursão nos aspectos bioquímicos da resistência à seca, o que enriqueceu, sem dúvidas, o nosso trabalho. Não nos podemos esquecer que, nos dias das determinações *in vitro* (das actividades dos fotossistemas, concentração dos transportadores de electrões e de carotenóides), por ti coordenadas, Prof. Fernando Lidon, “madrugavas” (abandonando o conchego do teu lar assim como os teus afazeres familiares, privando inclusivamente a sua família da tua companhia) para dares ajuda a um amigo. O trabalho era muito e havia que o fazer, nem que para isso fosse necessário sacrificar um fim de semana e/ou permanecer no laboratório até altas horas. Recebemos da vossa parte um grande exemplo de solidariedade. Agradecemos-lhe ainda pelo incentivo e ajuda que recebemos da vossa parte no sentido de publicar e participar em vários eventos científicos. Ao Prof. e amigo Fernando Lidon, bem assim como à sua família, o nosso profundo agradecimento.

Ao Doutor José Domingos Cochicho Ramalho, agradecemos também o apoio na determinação das trocas gasosas e dos parâmetros de fluorescência, a revisão de várias publicações e a riqueza de conhecimentos recolhidos de um número sem conta de discussões, acesas por vezes, contudo permitidas pela nossa amizade. Agradecemos-lhe ainda os conselhos e sugestões assim como a leitura e discussão exaustiva do manuscrito.

Ao Engenheiro Técnico Agrário Carlos Santiago, agradecemos também, sem esquecer a vossa colaboração em fases posteriores do trabalho experimental, o apoio providencial, logo no início dos trabalhos quando tudo é difícil.

À Doutora Paula Scotti Campos (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), agradecemos o apoio recebido no estudo da estabilidade membranar e dos lípidos. Agradecemos-lhe ainda as valiosas sugestões e conselhos assim como a revisão de partes do manuscrito e de algumas publicações. Colega e amiga Paula, os nossos agradecimentos.

Aos Engenheiros Agrónomos José Semedo, Nuno Marques e aos Engenheiros Técnicos Agrários Maria da Glória Drummond e Martin Chicorro (todos do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), membros do grupo de trabalho no âmbito do qual se realizou a Tese, agradecemos a amizade, a disponibilidade e a indispensável colaboração que abarcou todos os aspectos do trabalho, desde a instalação e condução dos ensaios, passando pelas determinações laboratoriais até ao apoio informático.

À conterrânea e colega Virgínia Lacerda Quartin, agradecemos o facto de nos ter ajudado a preencher aquele vazio que se sente quando distantes da Terra-Mãe. Só isto bastaria para constar dos nossos agradecimentos. Contudo não podemos deixar de agradecer-lhe por ter estado sempre disponível quando era necessário apoio para o que

fosse, principalmente quando algo corria mal com o “Excel”. Não nos podemos esquecer que foi graças a ti, prezada colega, que demos os primeiros passos neste programa informático.

À Dra. Maria Clara Medeira agradecemos, pela possibilidade que nos deu de utilizar a técnica de contagem dos estomas e pelas conversas e sugestões sobre a caracterização da área foliar específica e sua relação com a resistência à seca.

Às Técnicas de Laboratório Maria Luísa Antunes (do Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícolas do Instituto de Investigação Científica Tropical), Maria Emília Santos, Ana Paula Rosa Ramos e Isabel Pais (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), os nossos agradecimentos pelo apoio dado no sentido de conhecer os cantos do laboratório assim como pela disponibilidade demonstrada para prestar ajuda.

Ao Engenheiro Técnico Pena Monteiro, os nossos agradecimentos pelas informações prestadas sobre os mais diferentes aspectos da cultura do amendoim em Angola e em Portugal.

Ao Dr. Eduardo Rebelo (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), ao Engenheiro Agrónomo Pedro Canjumba (do Instituto de Investigação Agronómica de Angola) e ao Engenheiro Técnicos Agrário Mário Santos (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), agradecemos a colaboração pontual em algumas actividades. Ao Sr. João Pereira (do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional), os nossos agradecimentos pelo apoio prestado na instalação e acompanhamento dos ensaios.

Não podíamos deixar de agradecer, sob pena de grande injustiça, a todos os trabalhadores do Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional e do Departamento de Ecologia da Universidade de Évora, pela amizade e carinho com que nos trataram ao longo destes anos, factos que nos possibilitaram viver numa atmosfera saudável e de camaradagem e tornar a nossa actividade o mais ameno possível e por isso mesmo este trabalho também lhes pertence.

À esposa Alice e à nossa filha Esperança Liliana, agradecemos o facto de suportarem as nossas ausências e abstracções. Agradecemos também a força anímica que recebemos de vós, quando vencidos pelo cansaço e a dureza da vida, tudo parecia impossível. Agradecemos ainda o amor, a alegria e o alento que de vós recebemos.

Finalmente, agradecemos a todos aqueles que de algum modo tornaram possível a realização deste trabalho.

SUMÁRIO**BASES MORFO-FISIOLÓGICAS DA RESISTÊNCIA À SECA DO AMENDOIM. UM
CONTRIBUTO**

Em Angola, a “seca” é uma dura realidade com pesados reflexos sociais na agricultura e em todas actividades humanas, exigindo intervenção urgente. A seca limita a produção agrícola-alimentar pelos seus efeitos nos processos fisiológicos, com destaque para a fotossíntese, via pela qual as plantas, primeiro elo das cadeias agrícolas e ecológicas, obtêm cerca de 95% da biomassa e praticamente 100% da bio-energia. Para além disso, impede a conveniente utilização dos solos, pois mesmo na zonas “húmidas” há a contar com a quadra (ou quadras) do “cacimbo” e com as interrupções (kiangalas) e irregularidades da estação chuvosa.

Embora a diversidade de situações seja grande, da floresta densa húmida, quase equatorial, ao deserto, onde quase não chove, as paisagens, as gentes e a hidrologia mostram

eloquentemente, através do território, a dureza da “seca”. A própria guerra intensificando o êxodo rural para o litoral mais árido tem agravado a seca. Por seu turno a “Global Climate Change” acarretando maior irregularidade pluvial, tem vindo a trazer um contributo também negativo. O mesmo podemos dizer da desertificação pelo homem, por reduzir a capacidade de armazenamento de água do solo e a fertilidade deste, fertilidade que é factor essencial da eficiência da água.

Claro que numa guerra violenta que parece eternizar-se a paz e a reconstrução constituem a nossa mais almejada finalidade. Mas a luta contra a fome, de que a via agrícola é elevada expressão, na paz e na guerra, tem alta prioridade. Nesse sentido a cultura do amendoim é uma senda muito válida, dado o seu valor alimentar e os seus pesos tradicional e potencial. Trata-se porém do “amendoim social” e não do amendoim dos excessos industriais vigorosamente denunciados por René Dumont.

Resistência à seca e amendoim constituem o núcleo da nossa temática. E cremos que pertinentemente. Na perspectiva integrante que procuramos cultivar, a água disponível não serve apenas para fins agrícola-alimentares mas tem também um objectivo doméstico-artesanal da ruralidade (ou urbano-industrial onde o povoamento é concentrado) e uma finalidade ecológica, nomeadamente para manter e/ou melhorar os ecossistemas e os “life-support systems” em geral, incluindo o caudal mínimo dos rios e o reabastecimento dos aquíferos. Não se tratará isoladamente de maximizar a eficiência agrícola-alimentar da água, mas sim de otimizar conjuntamente a eficiência das três metas. Cada uma dessas metas tem as suas sub-componentes, às quais são atribuídas prioridades hídricas em cada conjuntura.

Nos climas cálidos e luminosos, a secura acarreta três tipos de “stress”: um “stress” xérico, um “stress” luminoso e um “stress” macro-térmico. Trataremos dos dois primeiros.

Houve desde logo que reduzir a frente nesse e noutros aspectos, para garantir a exequibilidade do trabalho.

Retomemos a seca no amendoim; a resistência à seca é determinada por um conjunto de características morfológicas, anatómicas, fisiológicas e bioquímicas. Uma das vias para ultrapassar os problemas decorrentes deste constrangimento ambiental, consiste precisamente em utilizar cultivares resistentes. O presente trabalho, realizado no Departamento de Fisiologia Vegetal da Estação Agronómica Nacional, e que constituiu a participação portuguesa no projecto internacional “Amelioration génétique de l’adaptation à la sécheresse de l’arachide, TS3-CT-0216”, teve como objectivo contribuir para o entendimento das bases morfo-fisiológicas da resistência à seca de algumas cvs. de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), tendo em vista a sua utilização em programas de selecção e de melhoramento genético .

A análise incidiu sobre plantas de três cvs. de amendoim, 57-422, 73-30 e GC 8-35, com aproximadamente dois meses de idade. Estas três cvs. resultaram de duas crivagens sucessivas. As cvs. Fleur 11, 55-437 e 73-33 não puderam entrar no estudo. As plantas desenvolveram-se, numa estufa, com redes laterais, de forma a permitir uma melhor circulação do ar. Assim não houve esgotamento do CO₂, nem efeito de estufa marcado. Semanalmente era-lhes fornecida uma solução nutritiva (Hoagland e Snyder 1933), sendo regadas sempre que necessário, para que se mantivessem em boas condições hídricas, isto é, próximo de 90% da “CC”. Para o teste de Hygen (Capítulo 3), a seca foi imposta em folhas destacadas por desidratação progressiva na bancada. Nas demais situações (salvo as referidas no Capítulo 8), a seca foi imposta por supressão da rega durante um período de 8-12 dias e as plantas deixadas a desidratar progressivamente. Nuns casos, as medições foram feitas a valores de RWC \approx 95%, 85-70% e 65-55%, correspondentes respectivamente ao controlo (C),

seca moderada (S1) e seca severa (S2). Noutros casos, apanhava-se toda a gama de valores do RWC compreendidos entre 95% e 40%. Apenas no capítulo 8, para avaliar a estabilidade das membranas e da A_{max} , a seca foi imposta mediante a utilização de uma solução osmótica (PEG 600 a 30%), correspondendo a um potencial de -0,9 MPa a -1 MPa.

No Capítulo 2, faz-se a apresentação da cultura e a análise das suas transformações ontogénicas, para inferir sobre alguns aspectos relacionados com a sua capacidade para resistir à seca, sem grandes preocupações com o que se passa ao nível celular. Para tal utilizámos como ferramenta de trabalho o método da análise de crescimento de Kevet *et al* (1971). A razão de peso foliar (LWR), área foliar específica (SLA), razão de área foliar (LAR), taxa de assimilação aparente (NAR), taxa de crescimento relativo (RGR) e duração da área foliar (LAD) assim como as razões raiz/parte aérea e folhas/caules, foram quantificados, em três momentos ao longo do ciclo cultural, aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem. Foram também quantificados outros parâmetros de interesse fisiológico e agronómico como sejam a densidade estomática, densidade do grão, capacidade fotossintética (A_{max}), condutância estomática (g_s), a taxa de fotossíntese líquida (P_n), água consumida (AC) e a eficiência do uso de água a longo prazo (WUE).

De uma forma geral, as plantas adoptaram, como estratégia de, numa primeira fase, privilegiar o crescimento das raízes e folhas em desfavor da parte caulinar. Daí, as variações, entretanto observadas, das razões raiz/parte aérea e folhas/caules ao longo do ciclo cultural. De salientar ainda que a cv. 57-422 apresentou os mais densos grãos, as maiores produções de biomassa radicular, caulinar, foliar e total, assim como também as maiores produções unitárias de vagens. Em termos fenológicos, as cvs. GC 8-35 (principalmente esta) e 73-30 revelaram-se mais precoces que a 57-422.

Os valores mais baixos da SLA foram observados nas cvs. 57-422 e 73-30. A menor SLA da cv. 73-30, relativamente à cv. GC 8-35, não significou, nem um maior potencial fotossintético, nem uma maior produção; quer mesmo ao nível da P_n , da matéria seca acumulada, assim como ao nível da produção de vagens. Apresentou porém uma maior WUE. Contudo, a cv. 57-422 é um bom exemplo da ocorrência de correlações negativas entre SLA e os parâmetros: P_n , produção de biomassa e WUE.

Em todas as cvs., os estomas estão, em maior quantidade, na página adaxial (a que fica mais protegida dos raios solares nos períodos de “stress” luminoso e hídrico e de coloração mais escura) do que na página abaxial, a de cor esbranquiçada e a mais exposta aos raios solares nos já referidos períodos de “stress”. Nem sempre a maior densidade estomática correspondeu a uma maior taxa transpiratória. As folhas da cv. 73-30 conjugam mesófilos densos com elevado número de estomas e baixas taxas transpiratórias. Aliás a ausência deste tipo de correlação é de há muito conhecida nalgumas plantas.

Os dois principais mecanismos de resistência à seca são, na terminologia Anglo-Saxónica, o “drought avoidance” (envolvendo nesta o “drought escape”) e o “drought tolerance”. A velocidade com que as plantas se desidratam, assim como a variação dos parâmetros hídricos e do teor de certos solutos em condições de “stress” hídrico reflectem diferentes estratégias de luta contra a seca. O Capítulo 3 teve como objectivo pesquisar diferenças genótípicas em relação aos graus de “drought avoidance” e de “drought tolerance”, baseando-se em algumas características e critérios como sejam, por exemplo, velocidade com que as plantas se desidratam, a magnitude da queda do potencial hídrico foliar e a acumulação de açúcares solúveis e de prolina em condições de seca. Foram quantificados o teor hídrico do solo, medido em relação à capacidade de vaso (“CC”), potencial hídrico foliar (ψ_w) e seus

componentes, condutância estomática (g_s) nas duas páginas, déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar (Δ_e), transpiração (T_r), pelo método gravimétrico, concentração de açúcares solúveis nas folhas e raízes e concentração de prolina nas folhas. Utilizando o método de Hygen, determinou-se o teor hídrico relativo correspondente ao encerramento estomático considerando apenas o efeito hidráulico resultante da desidratação (RWC_s , %), o tempo requerido para o encerramento estomático (T_s , s), as taxas de transpiração relativa total (TTRT), estomática (TTRS) e cuticular (TTRC), a importância relativa em termos percentuais da transpiração estomática (%TS) e da transpiração cuticular (%TC).

Ao contrário das cvs. 57-422 e GC 8-35, a cv. 73-30, devido aos mais baixos consumos de água logo na parte inicial do ciclo de seca (como provam os valores de g_s e T_r), conservou melhor a água, tendo atingido o final do referido ciclo melhor hidratada que as outras duas cvs. A sua caracterização como “avoider” é reforçada, por ter apresentado, entre outros atributos, uma menor taxa de transpiração acumulada, um mais elevado teor hídrico relativo no encerramento estomático e um menor decréscimo de ψ_w . A sua elevada transpiração cuticular pode ser um tanto perigosa quando o RWC atinge valores críticos. Na medida em que a técnica de Hygen cria um certo artificialismo é preciso prudência (mesmo para a cutícula). As cvs. 57-422 e GC 8-35 consumiram mais rapidamente a água ao seu dispor, tendo apresentado no fim do ciclo de seca valores de RWC que podem ser perigosos para a sua sobrevivência em condições de seca. O “drought tolerance” destas duas cvs. é também, porventura, posto em relevo pelo menor declive das curvas que relacionam o ψ_w com o RWC e ainda pela adaptação osmótica (descida de potencial) e pela não elasticidade das paredes celulares. Ao contrário do que se verificou em relação ao teor de açúcares solúveis, em que o aumento se processou de forma gradual, à medida que o ψ_s baixou, o teor de prolina

aumentou, apenas em condições de S2, embora muito mais. É importante notar que a imposição da seca, reduzindo a transpiração foliar, que é o grande dissipador de energia, aumentou a temperatura foliar, chegando a acréscimos de 10 °C em condições de seca severa nas cvs. 57-422 e GC 8-35. Na ausência de seca, a cv. 73-30 tem maior temperatura foliar que as outras (cerca de 2°C), dada a sua menor transpiração. Se o ar estivesse mais seco, maiores seriam as diferenças. Isto lembra as possibilidades de estudo com o “termómetro de infravermelhos”.

O êxito das plantas em condições de seca depende, em parte, da forma como elas gerem a produção de matéria seca, sua partição pelos diferentes órgãos e, sobretudo, da eficiência com que utilizam a pouca água disponível na produção de biomassa. O Capítulo 4 teve como objectivo analisar o comportamento das cvs., no que diz respeito ao crescimento, partição da biomassa e eficiência do uso da água a longo prazo (WUE), em condições de plena disponibilidade hídrica e de seca. Foram quantificados a biomassa radicular (W_R), biomassa caulinar (W_C), biomassa foliar (W_F), biomassa total (TDM), razão raiz/parte aérea, WUE e os índices de crescimento referidos no Capítulo 2.

Alicerçada nos factores de capacidade (maior área foliar e elevada LAR) e nos factores de eficiência (maior NAR), a estratégia da cv. 57-422 consistiu em crescer de forma exuberante enquanto houve água em abundância e restringir fortemente o crescimento quando ela escasseou. Por sua vez, as cvs. 73-30 e GC 8-35 apresentaram em condições de plena disponibilidade hídrica as menores taxas de crescimento e também as menores produções de matéria seca. Por outro lado, nestas duas cvs., tais índices de crescimento não foram significativamente afectados pela seca.

Contudo, em qualquer dos casos, a seca modificou o padrão normal da partição da

biomassa, facto que se reflectiu no aumento da razão raiz/parte aérea. Na cv. 57-422, esta razão aumentou, pelo facto de a biomassa da parte aérea ter sofrido fortes decréscimos. Na 73-30 esse aumento foi devido à conjugação de aumentos da biomassa radicular e decréscimos da parte aérea, enquanto que a cv. GC 8-35 conseguiu aumentado significativamente a biomassa radicular e mantendo praticamente inalterada a parte aérea.

De uma forma geral, o decréscimo da parte aérea deveu-se essencialmente mais ao decréscimo da biomassa foliar, do que da biomassa caulinar, facto muito evidente na cv. 57-422. Assim sendo, a cv. GC 8-35 parece ser a que apresentou o melhor ajuste da razão raiz/parte aérea, pois aumentou a capacidade de absorver água sem que contudo tenha prejudicado de forma significativa as dimensões do aparelho assimilador.

Em condições de plena disponibilidade hídrica, os valores mais elevados da WUE verificaram-se na cv. 57-422. Em condições de seca, verificou-se, em todas as cvs. estudadas, um aumento da WUE, significativo apenas para as cvs. 57-422 e GC 8-35. Tal aumento deveu-se fundamentalmente a um maior decréscimo no consumo de água do que na produção de biomassa, tendo-se verificado no entanto diferenças entre as cvs. No caso da 57-42, o aumento fez-se à custa, de uma drástica redução do consumo de água e significativos decréscimos na acumulação de matéria seca, enquanto que na cv. GC 8-35, o melhor ajuste da razão raiz/parte aérea, ter-lhe-á permitido uma melhor extracção de água do substrato, sem comprometer de forma significativa as dimensões do seu aparelho assimilador e a produção de biomassa. Notar que o substrato disponível parecia bem colonizado em todos os casos. A cv. 73-30 praticamente mantém os níveis de biomassa e de consumo de água, daí a pequena variação da WUE em condições de seca.

O Capítulo 5 teve como objectivo analisar o efeito da seca ao nível das trocas gasosas. Para o efeito, foram quantificadas a taxa de fotossíntese líquida (P_n), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (T_r), eficiência instantânea do uso da água (WUE_i) e a capacidade fotossintética (A_{max}).

As cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram em condições de plena disponibilidade hídrica os mais elevados valores de A_{max} , P_n , g_s and T_r (estes dois últimos aspectos reforçam as indicações dadas no capítulo 3). A P_n decresceu quer devido aos efeitos estomáticos quer devido aos efeitos não-estomáticos. De uma forma geral, a P_n começou a decrescer mais cedo que a A_{max} (no caso da cv. GC 8-35 isto não é bem nítido), o que mostra a maior importância da componente estomática no início da desidratação.

Em relação aos efeitos estomáticos, as cvs. apresentaram duas estratégias diferentes. A protagonizada pela cv. 73-30, caracterizada por baixos valores de g_s e de P_n , mesmo em condições de boa disponibilidade hídrica e decréscimos suaves destes parâmetros ao longo do ciclo de desidratação, e a protagonizada pelas cvs. GC 8-35 e 57-422, caracterizada por elevados valores de g_s e de P_n em condições de plena disponibilidade hídrica e por acentuados decréscimos destes parâmetros em condições de seca. Ainda assim, estas cvs. apresentaram, em condições de seca moderada, taxas transpiratórias e fotossintéticas mais elevadas do que as exibidas pela cv. 73-30. Quanto aos efeitos não-estomáticos, verificou-se, em todas as cvs., em decréscimo da A_{max} em condições de seca. Na cv. GC 8-35 o decréscimo já se observava a valores do RWC ainda bastante elevados, enquanto que nas outras duas cvs. A_{max} decresceu mais tarde.

Portanto, uma vez chegada à conclusão de que a maquinaria fotossintética era afectada pela seca, pretendeu-se, no Capítulo 6, analisar o efeito desta sobre os seus componentes: as

reacções de fotoredução e as de carboxilação. Foram determinadas as taxas das reacções H_2O -DCPIP, DPC-DCPIP e DCPIPH₂-MV. Foram também determinadas as concentrações de plastoquinona-9 (PQ-9) e a dos citocromos *b*_{559HP}, *b*_{559LP}, *b*₅₆₃, e *f*. Quantificou-se ainda a actividade da rubisco. Os efeitos no D1 e na ATP-sintase não puderam ser estudados, nem o significado da acumulação de lípidos.

A seca provocou em todas as cvs. uma inibição na actividade da cadeia de transporte de electrões. O PSII revelou ser o principal alvo da seca, enquanto que o PSI apresentou uma grande estabilidade. Este fotossistema só foi significativamente afectado pela seca na cv. GC 8-35. Em todas as cvs. estudadas, a actividade da rubisco sofreu um estímulo em condições de S1, só sendo afectada em condições de S2. Portanto, em condições de S1, a afectação da maquinaria fotossintética não deverá ser atribuída a alterações na actividade desta enzima, mas antes ser imputada a inibições ao nível do transporte de electrões, particularmente, ao nível do PSII e em última análise a uma inibição da recarga do ATP. Em condições de S2, já é de considerar a influência negativa da inibição da actividade da rubisco no decréscimo da actividade da maquinaria fotossintética.

O Capítulo 7 relaciona-se muito de perto com o anterior e aparece individualizado para se dar destaque a outro processo importante em condições de seca: a dissipação do excesso de energia. Para a análise de diferenças varietais em relação aos mecanismos de dissipação dessa energia, foram tidas em consideração as variações nos parâmetros da fluorescência da Chl *a*, nas actividades dos fotossistemas, nas concentrações de PQ e dos cit *b*_{559HP}, *b*_{559LP}, *b*₅₆₃ e *f*.

A cv. GC 8-35 assemelhou-se com a 57-422, pelo facto de ter mantido, em condições de S1, a fluorescência basal (F_0) inalterada. Por outro lado, diferiu dela e assemelhou-se com a 73-30 por ter apresentado já nessas condições hídricas decréscimos significativos na razão

entre a fluorescência variável (F_v) e a fluorescência máxima (F_m) - razão F_v/F_m -, que se acentuaram em condições de S2, e aqui associados a fortes aumentos de F_0 . Nas cvs. 73-30 e GC 8-35, a afectação da eficiência do PSII ocorreu já em condições de S1, enquanto que na 57-422 tal ocorreu apenas em condições de S2.

O ciclo de dissipação de energia envolvendo o PSII parece só ter sido importante na cv. 73-30 e mesmo assim apenas em condições de S1. Relativamente ao ciclo envolvendo o PSI, a cv. GC 8-35 diferiu das outras duas, pois este ciclo parece já ter sido significativamente afectado em condições de S1 e portanto não deve ter tido papel de relevo na dissipação de energia nessa cv.. Este ciclo pode ter sido importante na 57-422, pelo menos em condições de S1. Por seu lado, a cv. 73-30 foi a única em que a reacção de Mehler e a concentração dos cit do complexo *b/f* foram significativamente estimulados (em condições de S1) e portanto a única em que o ciclo em torno do PSI deve ter sido fundamental para a dissipação do excesso de energia.

No Capítulo 8, procurou-se explicar, através de estudos de resistência das membranas e do teor de lípidos acilo das folhas, diferenças varietais relativas ao grau de desenvolvimento dos mecanismos do “drought avoidance” e do “drought tolerance”. Para tal, determinou-se a estabilidade das membranas, da A_{max} (em discos foliares sujeitos aos efeitos do PEG) e dos lípidos acilo (em plantas submetidas a duas situações de seca, S1 e S2).

A seca provocou diferentes alterações na quantidade total de lípidos acilo das folhas das cvs. estudadas. Relativamente à cv. 73-30, verificou-se um forte decréscimo na quantidade total desta classe de lípidos, ainda mesmo em condições de S1, enquanto que a cv. 57-422 só foi significativamente afectada em condições de S2. A cv. GC 8-35 apresentou os mais baixos valores em condições de plena disponibilidade hídrica, um aumento significativo em

condições de S1, tendo-se verificado o decréscimo apenas em condições de S2. Por isso relativamente à estabilidade dos lípidos, a cv. 73-30 é a mais sensível, e portanto com uma menor “drought tolerance”, relativamente às outras duas, facto que vem reforçar as indicações fornecidas no Capítulo 3. O teste do PEG confirma esta observação, já que a cv. 73-30 apresentou os mais elevados valores da fuga de electrólitos.

Verificou-se também, em todas as cvs., uma associação positiva entre a estabilidade dos lípidos acilo e a integridade das membranas. Efectivamente, os menores danos das membranas foram observados nas cvs. GC 8-35 e 57-422, as quais apresentaram também uma maior estabilidade dos lípidos em termos da preservação da quantidade total e consequentemente uma maior capacidade para preservar a integridade das suas membranas. Pelo contrário, a cv. 73-30, cujos lípidos foram os mais afectados, apresentou também a maior fuga de electrólitos. A cv. GC 8-35, embora tenha revelado uma elevada estabilidade membranar, como foi acima referido, paradoxalmente (?) apresentou os maiores decréscimos da A_{max} . Por isso uma relação positiva entre a estabilidade da concentração de lípidos, integridade das membranas e capacidade fotossintética foi, apenas, verificada nas cvs. 57-422 e 73-30.

O Capítulo 9 teve como objectivo a análise do comportamento geral das cvs., na fase de reidratação. Procurou-se a partir desta análise algo sobre a estabilidade da maquinaria fotossintética e das membranas, na medida em que a recuperação reflecte um balanço entre a necessidade de reconstruir as estruturas e a de apenas reactivá-las. De facto, quando há genuína resistência protoplásmica, os próprios organelos podem manter-se anos (!) sob seca severíssima, como mostrou Tomaz Moreira com o *Myrothamnus flabelifolia* de Angola. Para

tal foram quantificados parâmetros hídricos, parâmetros relativos às trocas gasosas e à actividade da cadeia de transporte de electrões .

A recuperação de g_s e de T_r foi mais rápida nas cvs. 73-30 e GC 8-35 do que na cv. 57-422, facto que ajuda a explicar o forte decréscimo no consumo de água quando as plantas desta cv. foram submetidas a ciclos sucessivos de seca. O RWC recuperou completamente em todas as cvs., 24 h após a reidratação. Nesta altura verificou-se, relativamente à taxa de transporte de electrões e à actividade da rubisco, uma recuperação para valores acima do controlo. Porém, a fotossíntese líquida recuperou mais tarde, tendo-se observados valores acima dos normais nas cvs. 73-30 e GC 8-35. A fotossíntese líquida e o transporte de electrões recuperaram mais rapidamente que a capacidade fotossintética (principalmente na cv. 73-30). Contudo, a melhor recuperação da capacidade fotossintética verificou-se nas cvs. 57-422 e GC 8-35, facto que pode ter subjacente a si a maior estabilidade membranar destas cvs. revelada pela maior estabilidade da concentração dos lípidos acilo e pela menor fuga de electrólitos.

Estas cvs. abrem-nos novas perspectivas agronómicas de cultivo ao mesmo tempo que o melhoramento genético deve continuar de acordo com a filosofia do projecto, isto é com fundamento ecofisiológico. Por exemplo nas zonas tradicionais, a cv. 57-422 permite-nos encarar com menor receio a ocorrência das kiangalas e ir penetrando em zonas um tanto mais áridas, passando pois do Aw e do Cw de Köppen (Uíge; Malange, Lunda, Bié, Huambo) para o princípio do Bs (Benguela), sem de permeio esquecer Kwanza Sul e Kwanza Norte. Nessa penetração, a certa altura precisaremos de cvs. de ciclo mais curto como a GC 8-35, pode ainda ser melhorada no sentido de ter maior resistência protoplásmica à seca. A cv. 73-30 é uma interessante alternativa, dado a sua baixa condutância estomática e portanto a sua frugalidade no consumo de água; mas deverá ser melhorada no sentido de ter um maior índice

de colheita. No Norte onde também há pequeno cacimbo, a primeira quadra chuvosa pode ser cultivada com amendoim. Olharemos também mais afoitamente para as irregularidades que a Global Climate Change venha a trazer. Aliás como o amendoim é uma cultura anual pode fazer-se noutros espaços lusófonos, mesmo nos mediterrâneos.

ABSTRACT

In Angola drought is a crude reality with strong impacts on agriculture and all human activities, therefore demanding an urgent solution. Drought restricts agricultural production through its effects on physiological processes and prevents a suitable use of soils, since even in humid regions drought periods (“cacimbo”) as well as interruptions (“kiangalas”) and irregularity during rainy season may occur.

Drought resistance depends on morphological, anatomical, physiological and biochemical characteristics. The use of resistant genotypes is one of the ways to overcome drought. This work was carried out in the Department of Plant Physiology of Estação Agronómica Nacional (Portugal) and constitutes the portuguese participation in the international project “Amelioration génétique de l’adaptation à la sécheresse de l’arachide, TST3-CT-0216”. The aim of the work is to contribute to the understanding of the morpho-anatomo-physiological basis of drought resistance in peanut (*Arachis hypogaea* L.).

The effects of drought were evaluated in two months old plants (cvs. 57-422, 73-30 and GC 8-35) growing in a glasshouse. In general water stress was imposed by withholding irrigation. For the test of Hygen (Chapter 3), measurements were carried out in detached leaves. For membrane stability and photosynthetic capacity evaluation (Chapter 8) drought was imposed with polyethylene glycol PEG 600 (c.a. between -0.9 to -1 MPa).

In Chapter 2, we analysed the ontogenetic transformation of the studied cvs. in order to infer about some aspects related to the ability to withstand drought. Plants were kept well-watered. Leaf weight ratio (LWR), specific leaf area (SLA), leaf area ratio (LAR), net assimilation ratio (NAR), relative growth ratio (RGR), leaf area duration (LAD), total dry matter (TDM), ratio root/shoot and the ratio leaves/stems were measured at 30, 40 and 70 days after seedlings transfer to pots. Additionally, stomatal density, grain density, photosynthetic capacity (A_{max}), stomatal conductance (g_s), net photosynthesis (P_n), transpiration (T_r), long-term water use efficiency (WUE) and pod production were measured.

In general, during the first stage of their life cycle, plants favoured root and leaf growth. Thus changes in the ratio root/shoot and leaves/stems were observed during the agricultural cycle. Cv. 57-422 presented the highest grain density, as well the highest production of root, stem leaf and total biomass. Cvs. 73-30 and particularly GC 8-35 reached maturity earlier than cv. 57-422.

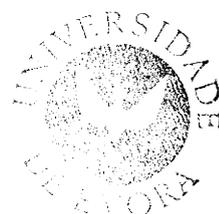
In all studied cvs. it was observed that adaxial surface presented higher stomatal density than abaxial surface. Not always the higher stomatal density correspond to a higher rate of

transpiration. Cv. 73-30 combined compact mesophyll, higher stomatal density and low rates of transpiration.

The aim of Chapter 3 was to evaluate differences among peanut cvs. in what concerns drought tolerance and drought avoidance responses, by a combination of different characteristics and criteria, such as, for example, tissue dehydration speed, the extent of ψ_w decline and accumulation of soluble sugars and proline under drought conditions. During the dehydration period, field pot capacity ("CC"), leaf water potential (ψ_w) and its components were evaluated, as well as stomatal conductance (g_s), water pressure deficit between leaves and air (Δ_e), transpiration (T_r), proline and root and leaves soluble sugars content. The following parameters were determined by the Hygen test: relative water content at stomatal closure considering only the hydraulic forces (RWC_{s_s} , %) and the relative importance of stomatal (% TS) and cuticular transpiration (% TC).

Due to initial lowest values of water consumption (as reflected by g_s and T_r), cv. 73-30 conserves water better than the other two cvs., reaching the drying cycle better hydrated than the other two cvs. Such a drought avoidance ability is reinforced by the lowest transpiration accumulated rate, highest RWC at stomatal closure and a greater slope of the curves which establish the relationship between leaf water potential and relative water content. The drought tolerance of cvs. 57-422 and GC 8-35 is related to a greater decline of (ψ_w) and leaf osmotic potential (ψ_s).

In Chapter 4, the studied cvs. were characterised in what concerns their growth (biomass production), biomass partitioning and long-term water use efficiency (WUE), under control conditions, as well as under water stress conditions. During dehydration, root biomass (W_R), stem biomass (W_C), leaf biomass (W_F), total biomass (TDM), ratio



root/shoot, WUE and the growth characteristics referred in Chapter 2 were measured.

Under control conditions, cv. 57-422 grows and produces much more biomass than the other two cvs.. A significant decrease on growth and biomass production occurred only in cv. 57-422. Although, due to its initial values, this cv. presented the highest biomass production under moderate drought conditions. However, in all cases, drought causes a change in the normal pattern of biomass partitioning, as reflected by the increase of the root/shoot ratio. In cv. 57-422, the increase of this ratio was due essentially to a strong decrease of shoot, while for cv. GC 8-35 this increase was due to a strong increase of root biomass. In general, leaf biomass was more affected by water stress than stem biomass (more evident in cv. 57-422). So cv. GC 8-35 seemed to present the best root/shoot ratio adjustment, since it increased the ability for water absorption and did not significantly reduce the photosynthetic surface.

Under control conditions, the highest values of WUE occurred in cv. 57-422. In cv. 73-30 this parameter remained unchanged, under moderate water stress conditions, while in cvs. 57-422 and GC 8-35 significantly increased. The increase was mainly due to a decrease in water consumption, but also to a decrease in biomass production. However some differences among cvs. were observed. For cv. 57-422, the increase of WUE was due not only to a very strong decrease in water consumption, but also to a significant decrease in biomass production. For cv. GC 8-35, the increase of this parameter was due to a strong decrease on water consumption, since biomass production statistically remained unchanged.

In Chapter 5 we analysed the effects of water stress on photosynthetic activity at the level of gas exchanges. During the dehydration period net photosynthesis (P_n), stomatal conductance (g_s), transpiration (T_r), instantaneous water use efficiency (WUE_i) and photosynthetic capacity (A_{max}) were measured.

Under control conditions, cvs. 57-422 and GC 8-35 presented the highest values of A_{max} , P_n , g_s and T_r (these two last aspects reinforce the information obtained in Chapter 3). In general, P_n began to decrease earlier than A_{max} , which shows the importance of stomatal component in the beginning of the drying cycle. As regards stomatal behaviour, cvs. presented two strategies. The first, represented by cvs. 57-422 and GC 8-35, is characterised by higher values of g_s and P_n under control conditions and strong decreases under drought conditions. These cvs. presented better performances under mild stress. The second, represented by cv. 73-30, is characterised by low initial values of those parameters and a slight decrease under drought conditions.

In Chapter 6, the effects of water stress on photosynthesis at photochemical and biochemical levels were analysed. In the previous Chapter we concluded that photosynthetic machinery was affected by water stress. The next step was to understand how this stress affected the main reactions of photosynthetic metabolism: electron transport and carboxylation. Plants were submitted to three treatments by withholding irrigation: control (C), mild water stress (S1) and severe water stress (S2), corresponding to values of RWC around 95%, 85-70% and 65-55%, respectively. Measurements included electron transport rates of photosystem I (PSI) and photosystem II (PSII), quantification of some electron carriers - plastoquinone-9 (PQ-9), cytochromes (*cyts*) b_{559HP} , b_{559LP} , b_{563} , and *f*- and

activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco). In all studied cvs., thylakoidal-mediated electron transport was affected by water stress, being PSII more sensitive than PSI. Rubisco activity increased under S1 conditions and decreased only under S2. Thus, drought effects on photosynthetic machinery were probably not due to a decrease in rubisco activity under mild water stress.

The Chapter 7 is closely related to the Chapter 6, and was individualised in order to emphasise an important process under water stress conditions: energy dissipation. Plants were submitted to three treatments by withholding irrigation: control (C), mild water stress (S1) and severe water stress (S2). The evaluation of differences among the studied cvs. was made considering changes on chlorophyll *a* fluorescence parameters, photosystems activity and some electron carriers concentration.

Contrarily to what was observed in cv. 73-30, cvs. 57-422 (under drought conditions) and GC 8-35 (only under S1 conditions) maintained unchanged the processes at the level of their antennae. For cvs. 73-30 and GC 8-35 a decrease on PSII efficiency already occurred under S1 conditions, while for cv. 57-422 it occurred only under S2 conditions.

The energy dissipation cycle involving PSII conditions seemed to be important only in cv. 73-30 under S1. As concerns the cycle involving PSI, cv. GC 8-35 differs from the remaining cvs., since this cycle seemed to be significantly affected already under S1 conditions and therefore would not play an important role in the dissipation of energy excess. This cycle might be important for cv. 57-422 under S1 conditions. The Mehler reaction and the concentration of the cyt *b/f* increased under S1 conditions only in cv. 73-30. Consequently, only in this cv., the cycle involving PSI might have been essential for the dissipation of the excess of energy.

In Chapter 8, the effects of drought on thylakoidal acyl lipid composition, photosynthetic capacity and electrolyte leakage were evaluated. For lipid studies, plants were submitted to three treatments by withholding irrigation as referred for Chapter 7. Concerning membrane integrity and photosynthetic capacity evaluation, drought was imposed by polyethylene glycol (PEG 600). In cv. 73-30 a sharp decrease in the content of thylakoid acyl lipids was observed, already under S1 conditions, whereas cv. 57-422 was only strongly affected under S2 conditions. Cv. GC 8-35 presented the lowest acyl lipids content under control conditions, a significant increase under S1 conditions and only under S2 conditions a decrease occurred. Thus concerning lipid stability cv. 73-30 seems to be the most sensitive. Among lipid classes, phospholipids and galactolipids were similarly affected, as was MGDG relatively to DGDG. Water deficit imposed by PEG induced a higher increase in electrolyte leakage in cv. 73-30 than in the others. A positive relationship between acyl lipid concentration and membranes integrity was found in all studied cvs. Also a positive association between acyl lipid concentration, membrane integrity and photosynthetic activity was found in cvs. 57-422 and 73-30.

The aim of Chapter 9 was to evaluate the ability of cvs. to endure water stress and to recover, in what concerns stomatal and non-stomatal components of photosynthesis (*in vitro* photosystems II and I and rubisco activities, and gas exchange parameters). Cvs. 73-30 and GC 8-35 rapidly regained leaf conductance and transpiration. In all cvs. RWC fully recovered 24 h after rehydration. At this time, a overrecovery of electron transport rates and rubisco activity occurred. However, net photosynthesis fully recovered later, and an overrecovery occurred only for cvs. 73-30 and GC 8-35. A better and faster recovery of photosynthetic capacity was observed in cvs. 57-422 and GC 8-35.

General conclusions

Concerning ontogenetic aspects, it was observed under control conditions that in general, during the first stage of their life cycle, plants favoured root and leaf growth. Cv. 57-422 presented the highest grain density, as well as the highest production of root, stem leaf and total biomass and covered better the soil surface. Cvs. 73-30 and particularly GC 8-35 reached maturity earlier than cv. 57-422. Relatively to morphological and anatomical aspects, in all studied cvs. it was observed that adaxial leaf surface presented higher stomatal density than abaxial leaf surface. Cvs. 57-422 presented the highest stomatal density, while the lowest stomatal density was observed in cv. GC 8-35. Not always the higher stomatal density correspond to a higher rate of transpiration. Under normal conditions, the lowest values of g_s occurred in adaxial leaf surface. Also cv. 73-30 combined compact mesophylls, higher stomatal density and low rates of transpiration.

Due to initial lowest values of water consumption (as reflected by g_s and T_r), cv. 73-30 conserves water better than the other two cvs. Such a drought avoidance ability is reinforced by the lowest transpiration accumulated rate, highest RWC at stomatal closure and a greater slope of the curves which establish the relationship between leaf water potential and relative water content. The drought tolerance of cvs. 57-422 and GC 8-35 is related to a greater decline of (ψ_w) and leaf osmotic potential (ψ_s), lipid stability, low electrolyte leakage and a better recovery of A_{max} .

Under control conditions, cv. 57-422 grows and produces much more biomass than the other two cvs.. A significant decrease on growth and biomass production occurred only in cv. 57-422. Although, due to its initial values, this cv. presented the highest biomass production under moderate drought conditions. However, in all cases, drought causes a

change in the normal pattern of biomass partitioning, as reflected by the increase of the root/shoot ratio. In cv. 57-422, the increase of this ratio was due essentially to a strong decrease of shoot, while for cv. GC 8-35 this increase was due to a strong increase of root biomass. In general, leaf biomass was more affected by water stress than stem biomass (more evident in cv. 57-422). So cv. GC 8-35 seemed to present the best root/shoot ratio adjustment, since it increased the ability for water absorption and did not significantly reduce the photosynthetic surface.

Under control conditions, the highest values of WUE occurred in cv. 57-422. In this cv. and GC 8-35, this parameter significantly increased under moderate water stress conditions and remained unchanged in cv. 73-30. For cv. 57-422, the increase of WUE was due not only to a very strong decrease in water consumption, but also to a significant decrease in biomass production, while for cv. GC 8-35 the increase of this parameter was due to a strong decrease on water consumption, since biomass production statistically remained unchanged.

Relatively to gas exchanges, it was founded that, under control conditions, cvs. 57-422 and GC 8-35 presented the highest values of A_{\max} , P_n , g_s and T_r . In generally, P_n begun to decrease earlier than A_{\max} , which shows the importance of stomatal component in the beginning of the drying cycle. As regards stomatal behaviour, cvs. presented two strategies. The first, represented by cvs. 57-422 and GC 8-35, is characterised by higher values of g_s and P_n under control conditions and strong decreases under drought conditions. These cvs. presented, despite these decreases, better performances under mild stress. The second,

represented by cv. 73-30, is characterised by low initial values of those parameters and a slight decrease under drought conditions.

In all studied cvs., thylakoidal-mediated electron transport was affected by water stress, being PSII more sensitive than PSI. Rubisco activity increased under S1 conditions and decreased only under S2. Thus, drought effects on photosynthetic machinery were probably not due to a decrease in rubisco activity under mild water stress.

The energy dissipation cycle involving PSII conditions seemed to be important only in cv. 73-30 under S1. As concerns the cycle involving PSI, cv. GC 8-35 differs from the remaining cvs., since this cycle seemed to be significantly affected already under S1 conditions and therefore would not play an important role in the dissipation of energy excess. This cycle might be important for cv. 57-422 under S1 conditions. The Mehler reaction and the concentration of the *cyt b/f* increased under S1 conditions only in cv. 73-30. Consequently, only in this cv., the cycle involving PSI might have been essential for the dissipation of the excess of energy.

In rehydration cvs. 73-30 and GC 8-35 rapidly regained leaf conductance and transpiration, while the opposite occurred in cv. 57-422. This help to explain the strong decrease on water consumption observed in plants of this last cv. submitted to successive drying cycles.

In all cvs. RWC fully recovered 24 h after rehydration. At this time, a overrecovery of electron transport rates and rubisco activity occurred. However, net photosynthesis fully recovered later, and an overrecovery occurred only for cvs. 73-30 and GC 8-35. This overrecovery might be related to the stability of biomass production of the plants of these two cvs. submitted to successive drying cycles.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	I
SUMÁRIO	IX
ABSTRACT	XXIII
GENERAL CONCLUSIONS.....	XXX
ÍNDICE	XXXIII
SÍMBOLOS E NOTAÇÕES	XLIII
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 PROPÓSITO.....	1
1.2 A SECA E O AGROS ANGOLANO.....	1
1.3 CONDIÇÕES DE ARIDEZ E A SECA EM ANGOLA.....	4
1.4 A CULTURA DO AMENDOIM NO CONTEXTO ALIMENTAR DAS GENTES DE ANGOLA.....	8
1.5 OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA À SECA: BREVE ABORDAGEM NUMA PERSPECTIVA DA SUA UTILIZAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE SELECÇÃO EM ANGOLA.....	11
1.6 BIBLIOGRAFIA.....	20

2 ASPECTOS ONTOGÊNICOS, MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS. SUAS IMPLICAÇÕES NA RESISTÊNCIA À SECA DAS PLANTAS.....	26
2.1 INTRODUÇÃO.....	26
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.2.1 Germinação, repicagem, condições gerais de crescimento e realização da colheitas.....	27
2.2.2 Determinação da área foliar e do número de folhas.....	28
2.2.3 Cálculo dos índices de crescimento.....	28
2.2.4 Determinação das trocas gasosas.....	29
2.2.5 Determinação da frequência estomática.....	30
2.2.6 Observação dos tropismos e cor das páginas das folhas.....	30
2.2.7 Análise estatística.....	31
2.3 RESULTADOS.....	31
2.3.1 Algumas características fisiológicas e agronômicas das cvs. estudadas.....	31
2.3.2 Evolução da biomassa total e duração do ciclo cultural.....	32
2.3.3 Evolução da biomassa radicular, caulinar, foliar e total ao longo do ciclo cultural.....	33
2.3.4 Evolução das razões raiz/parte aérea e folhas/caules ao longo do ciclo cultural.....	34
2.3.5 Evolução de alguns índices de crescimento ao longo do ciclo cultural.....	35

2.3.6 Tropismos e cor dos folíolos.....	37
2.3.7 Algumas características estomáticas.....	40
2.4 DISCUSSÃO.....	40
2.5 CONCLUSÕES.....	48
2.6 BIBLIOGRAFIA.....	49
3 RELAÇÕES HÍDRICAS E ACUMULAÇÃO DE SOLUTOS	
EM PLANTAS SUBMETIDAS A CONDIÇÕES DE “STRESS”	
HÍDRICO.....	54
3.1 INTRODUÇÃO.....	54
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
3.2.1 Germinação, determinação da capacidade de vaso e condições gerais decrescimento.....	56
3.2.2 Imposição do “stress” hídrico e determinação da transpiração.....	56
3.2.3 Medição da condutância estomática por porometria difusiva e do déficit de pressão de vapor.....	57
3.2.4 Determinação do teor hídrico relativo, área foliar específica e do potencial hídrico foliar e seus componentes.....	57
3.2.5 Determinação do teor hídrico relativo correspondente ao fecho dos estomas pelo método de Hygen.....	58
3.2.6 Determinação do teor de açúcares solúveis.....	59
3.2.7 Determinação do teor de prolina.....	60
3.2.8 Determinação do teor de clorofilas.....	61

3.2.9	Análise estatística.....	61
3.3	RESULTADOS.....	31
3.3.1	Relação entre a capacidade de vaso e o teor hídrico relativo ao longo do ciclo de seca.....	61
3.3.2	Variação do consumo de água ao longo do ciclo de seca.....	62
3.3.3	Variação da condutância estomática das duas páginas e da temperatura foliar ao longo do ciclo de seca.....	64
3.3.4	Atributos ligados à conservação da água.....	64
3.3.5	Relação entre o teor hídrico relativo, o potencial hídrico foliar e seus componentes.....	64
3.3.6	Acumulação de açúcares solúveis e de prolina em condições de “stress” hídrico.....	66
3.3.6	Efeitos do “stress” hídrico sobre o teor de clorofilas e a área foliar específica.....	68
3.4	DISCUSSÃO.....	68
3.5	CONCLUSÕES.....	73
3.6	BIBLIOGRAFIA.....	74
4	EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NO CRESCIMENTO, PARTIÇÃO DA BIOMASSA E NA EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA.....	82
4.1	INTRODUÇÃO.....	82
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	83
4.2.1	Germinação, determinação da capacidade de vaso e	

condições gerais de crescimento.....	83
4.2.2 Imposição do “stress” hídrico.....	83
4.2.3 Cálculo dos índices de crescimento.....	84
4.2.4 Determinação da biomassa e das dimensões do aparelho assimilador.....	84
4.2.5 Determinação da eficiência do uso da água a longo prazo	85
4.2.6 Análise estatística.....	85
4.3 RESULTADOS.....	85
4.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre algumas características da folha.....	85
4.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre alguns índices de crescimento.....	87
4.3.3 Efeitos do “stress” hídrico sobre a produção de biomassa radicular, caulinar e foliar.....	88
4.3.4 Efeito do “stress” hídrico sobre a produção de vagens.....	89
4.3.5 Efeito do “stress” hídrico sobre a partição da biomassa.....	90
4.3.5.1 Efeito do “stress” hídrico na percentagem relativa dos diferentes órgãos da planta.....	90
4.3.5.2 Efeito do “stress” hídrico sobre a razão raiz/parte aérea.....	91
4.3.6 Efeito do “stress” hídrico sobre a WUE.....	92
4.4 DISCUSSÃO.....	93
4.5 CONCLUSÕES.....	98
4.6 BIBLIOGRAFIA.....	100
5 EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NAS TROCAS GASOSAS.....	106
5.1 INTRODUÇÃO.....	106

5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	108
5.2.1 Condições gerais de crescimento e determinação do teor hídrico relativo.....	108
5.2.2 Determinação da condutância estomática, taxas de transpiração e fotossíntese líquida e da eficiência instantânea do uso da água.....	108
5.2.3 Determinação da capacidade fotossintética.....	108
5.3 RESULTADOS.....	108
5.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre a condutância estomática e taxas de transpiração e fotossíntese líquida.....	108
5.3.2 Efeito do “stress” hídrico sobre a capacidade fotossintética	112
5.3.3 Efeito do “stress” hídrico sobre a eficiência instantânea do uso da água.....	113
5.4 DISCUSSÃO.....	113
5.5 CONCLUSÕES.....	119
5.6 BIBLIOGRAFIA.....	120
6 EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NO TRANSPORTE DE ELECTRÕES E NA ACTIVIDADE CARBOXILATIVA DA RUBISCO.....	129
6.1 INTRODUÇÃO.....	129
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	130
6.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca.....	130

6.2.2 Determinação da actividade da cadeia de transporte electrões da fotossíntese.....	130
6.2.3 Determinação da concentração dos citocromos <i>b_{559HP}</i> , <i>b₅₆₃</i> , <i>b_{559LP}</i> e <i>f</i>	132
6.2.4 Determinação da concentração da plastoquinona-9.....	133
6.2.5 Determinação do teor de clorofilas.....	135
6.2.6 Determinação da actividade carboxilativa total da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase.....	135
6.2.7 Análise estatística.....	136
6.3 RESULTADOS.....	136
6.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre as reacções de Hill e Mehler.....	136
6.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre os transportadores de electrões.....	138
6.3.3 Efeito do “stress” hídrico sobre a actividade carboxilativa total da rubisco.....	140
6.4 DISCUSSÃO.....	140
6.5 CONCLUSÕES.....	144
6.6 BIBLIOGRAFIA.....	145
7 MECANISMOS DE DISSIPAÇÃO DO EXCESSO DE ENERGIA EM CONDIÇÕES DE “STRESS” HÍDRICO.....	152
7.1 INTRODUÇÃO.....	152
7.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	153

7.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca.....	153
7.2.2. Determinação dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i>	154
7.2.3. Extração e separação de carotenóides.....	154
7.2.4 Determinação do teor de clorofilas.....	155
7.2.5 Análise estatística.....	155
7.3 RESULTADOS.....	136
7.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre os parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i>	155
7.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre os carotenóides.....	157
7.4 DISCUSSÃO.....	158
7.5 CONCLUSÕES.....	160
7.6 BIBLIOGRAFIA.....	161
8 A ESTABILIDADE DOS LÍPIDOS COMO DETERMINANTE DA TOLERÂNCIA À SECA.....	167
8.1 INTRODUÇÃO.....	167
8.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	168
8.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca.....	168
8.2.2 Determinação da estabilidade das membranas e da capacidade fotossintética.....	169
8.2.3 Extração e separação de lípidos acilo de membranas tilacoidais.....	170
8.2.4 Análise estatística.....	171

8.3 RESULTADOS.....	171
8.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre a estabilidade das membranas e a capacidade fotossintética.....	171
8.3.2 Efeito da seca no teor de lípidos acilo.....	172
8.4 DISCUSSÃO.....	174
8.5 CONCLUSÕES.....	177
8.6 BIBLIOGRAFIA.....	177
9 TROCAS GASOSAS, ACTIVIDADE DOS FOTOSSISTEMAS E DA RUBISCO APÓS A REIDRATAÇÃO.....	183
9.1 INTRODUÇÃO.....	183
9.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	184
9.2.1 Condições gerais de crescimento, imposição da seca e reidratação das plantas.....	184
9.2.2 Determinação do teor hídrico relativo e das trocas gasosas.....	184
9.2.3 Determinação da actividade dos fotossistemas, da actividade da rubisco e do teor de clorofila.....	184
9.3 RESULTADOS.....	185
9.3.1 Efeitos da seca sobre o estado hídrico e as trocas gasosas das plantas.....	185

9.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre no transporte de electrões e na actividade da rubisco.....	186
9.3.3 Recuperação do estado hídrico e das trocas gasosas.....	188
9.3.4 Recuperação das taxas de transporte de electrões e da actividade da rubisco.....	189
9.4 DISCUSSÃO.....	190
9.5 CONCLUSÕES.....	194
9.6 BIBLIOGRAFIA.....	195
10 CONCLUSÕES GERAIS.....	198
11 BIBLIOGRAFIA GERAL.....	202

SÍMBOLOS E NOTAÇÕES

AC = Água consumida por vaso

A_F = Área foliar

$A_{máx}$ = Capacidade fotossintética

ANS = Ácido sulfônico anilinaftaleno

BSA = Albumina de soro bovino

C_a = Concentração de vapor de água inicial da câmara

C_b = Concentração de vapor de água final da câmara

“CC” = Capacidade de vaso

Chl = Clorofila

C_i = Concentração interna de dióxido de carbono

Cit = Citocromo

Cv. = Cultivar

DCPIP = 2,6-Diclorofenolindofenol oxidado

DCPIPH₂ = 2,6-Diclorofenolindofenol reduzido

DGDG = Digalactosildiácilglicerol

DPC = 1,5-difenil-carbohidrazina

EDTA = Ácido etilenodiaminatetracético

FFA = Ácidos gordos livres

F_o = Fluorescência inicial, mínima ou basal

F_m = Fluorescência máxima

F_N = Número de folhas

F_v = Fluorescência variável

g_c = Condutância cuticular

g_s = Condutância estomática

g_{sabax} = Condutância estomática da página abaxial

g_{sadax} = Condutância estomática da página adaxial

HEPES = Ácido 4- (2-hidroxietil)-1- piperazino etanosulfônico

HI = Índice de colheita

I% = Índice de dano das membranas

LAD = Duração da área foliar

LAR = Razão de área foliar

LWR = Razão de peso foliar

MES = Ácido-2-(-N-morfolino) etanosulfônico

MGDG = Monogalactosildiácilglicerol

MV = Metilviologénio

NAR = Taxa líquida de assimilação ou taxa de assimilação aparente

Pag. abax. = Página abaxial

Pag. adax. = Página adaxial

PC = Fosfatidilcolina

PEG = Polietilenoglicol

PG = Fosfatidilglicerol

PI = Fosfatidilinositol

P_n = Taxa fotossintética líquida

PQ-9 = Plastoquinona-9

P = Peso de 100 grãos

P_f = Peso fresco

P_s = Peso seco

PS = FOTOSISTEMA

P_t = Peso túrgido

q_n = Factor de amortecimento não fotoquímico da fluorescência

q_p = Factor de amortecimento fotoquímico da fluorescência

RGR = Taxa de crescimento relativo

Rubisco = Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase

RWC = Teor hídrico relativo

RWC_s = Teor hídrico relativo correspondente ao fecho dos estomas

r_s = resistência foliar à difusão do vapor de água

SLA = Área foliar específica

T_{ar} = Temperatura do ar

- TDM = Biomassa total ou matéria seca total
- TLC = Cromatografia em camada fina
- T_f = Temperatura da folha
- T_r = Taxa de transpiração
- TTRC = Taxa de transpiração relativa cuticular
- TTRS = Taxa de transpiração relativa estomática
- TTRT = Taxa de transpiração relativa total
- UV = Ultra violeta
- W = Biomassa
- W_C = Biomassa caulinar
- W_F = Biomassa foliar
- W_R = Biomassa radicular
- WUE = Eficiência do uso da água a longo prazo
- WUE_i = Eficiência instantânea do uso da água
- ϕ_e = Estimativa da eficiência quântica do transporte não-ciclístico de electrões
- ψ = Potencial hídrico
- ψ_p = Potencial de pressão
- ψ_s = Potencial osmótico
- Δ_e = Deficit de pressão de vapor entre o ar e a folha
- Δ_t = Diferença de temperatura entre o ar e a folha
- % TC = Percentagem da transpiração cuticular
- % TS = Percentagem da transpiração estomática

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Propósito

A nossa finalidade é a de contribuir para o conhecimento das bases morfo-fisiológicas da resistência à seca do amendoim, no âmbito do projecto afim e estender esse saber aos agricultores do mundo tropical (em particular os de Angola) e do mundo mediterrânico.

1.2 A seca e o Agros Angolano

Como todas as actividades económicas, a agricultura depende de factores políticos, sócio-económicos e da criação de um conjunto de estruturas que permitam produzir e escoar os produtos em condições vantajosas. Porém, nenhuma actividade é tão sensível aos efeitos das condições ambientais (dos quais se destaca a seca) como o é a actividade agrícola (*lato sensu*) e em particular a produção vegetal.

A actividade agrícola é também sinónimo de água, até pelo facto de as plantas serem bastante ineficientes em termos de utilização da água absorvida. De facto, são necessárias entre 100-1000g de água para produzir apenas 1g de matéria seca. Daí que o solo deva ter uma grande disponibilidade hídrica para permitir às plantas repor rapidamente os níveis de hidratação e consequentemente manter o seu normal funcionamento. Acontece que com esta magnitude de perdas, as reservas hídricas do solo baixam consideravelmente, podendo então ocorrer situações de “stress” hídrico, de que podem resultar reduções do crescimento vegetal e da produção da matéria seca. Por isso, desde há muito que o homem se tem preocupado com o assunto e, ao longo dos tempos, diferentes civilizações utilizaram os mais diferentes meios para contornar ou pelo menos minimizar os efeitos da seca sobre a produção agrícola. Reparemos nas grandes obras de engenharia do antigo Egipto, nas técnicas de irrigação e conservação de água adoptadas pelos Aztecas (Mason 1994) e na zonagem do milho e do massango praticada pelos povos de Angola (Ferrão *et al.* 1960, Marcelino 1973, Cruz-de Carvalho 1998).

A seca é um fenómeno bastante comum e Angola não foge à regra. Os seus climas de tipo árido (Bwh) e semi-árido (Bsk), abarcam a faixa costeira e a zona Sul de altitudes médias e representam uma área de 247,54 Km², equivalente a 19,9% da área total (não incluindo a Baixa de Cassange). E por ironia, é nalgumas destas zonas que ocorrem as unidades-solo com razoável profundidade, fertilidade e capacidade de retenção de água. O resto do território angolano encontra-se situado em zonas associadas a precipitações elevadas, onde dominam largamente os solos ferralíticos, com um menor fundo de fertilidade natural, e que representam 45% da área total do território angolano. A estas zonas estão associadas climas do tipo, Aw (clima tropical de savana), Cwa (clima tropical de estepe, quente) e Cwb (clima tropical de estepe,

relativamente quente), representando 39,5%, 30,1 e 10,5 do total, respectivamente. Acontece que mesmo nessas zonas, a seca marca presença.

Uma das características da precipitação em Angola (e portanto da disponibilidade de água para as plantas) é o seu carácter marcadamente sazonal e a ocorrência, na época chuvosa, das kiangalas (termo kimbundo utilizado, na região de Malange, para se referir aos períodos de seca, que ocorrem durante a época chuvosa). Para além disso, é também importante frisar que as chuvas em Angola ocorrem num altura do ano em que as temperaturas são elevadas (maiores perdas por evapotranspiração) e são de carácter torrencial (por maior que seja a capacidade do solo em absorver e reter a água, o certo é que a precipitação efectiva pode ser de facto muito baixa). Portanto, a seca em Angola é uma realidade, uma questão de urgência social não só nas zonas áridas e semi-áridas como também nas zonas húmidas e sub-húmidas, com a agravante de, relativamente às primeiras, ter havido, nestes últimos anos, como consequência da guerra, um afluxo importante de pessoas para as mesmas, o que significa uma maior actividade agrícola numa zona já em si deficitária em água. Estamos já perante um caso de “seca demográfica”, de solução complexa. Para além do fim da guerra e da implementação de acções normalmente utilizadas para minimizar a seca, terá que se inverter a tendência do êxodo rural. Será preciso revitalizar o Agros angolano, permitindo desta forma a valorização do homem rural na perspectiva de um desenvolvimento integrado que dignifique a sua vida e o prenda à terra.

A luta contra a seca é um dos meios para atingir tal desiderato. Por isso mesmo, ela inspirou a nossa tese. A agricultura de sequeiro, a mais representativa actividade do Agros angolano, será o nosso campo de acção, enquanto que o entendimento dos aspectos morfo-fisiológicos da resistência à seca, numa cultura profundamente enraizada nos hábitos alimentares das gentes de angolana, será o nosso contributo para



enfrentarmos a seca, quer a nível da selecção, como ao nível do melhoramento e muito particularmente, ao nível da criação dum “know how” local, perfeitamente enquadrado nas redes de investigação internacionais. Contudo, antes mesmo de enfrentar a seca convirá em primeiro lugar conhecê-la, isto é, caracterizá-la e enquadrá-la nos sistemas de cultura praticados em Angola. De facto, de acordo com Annerose e Diague (1990), a caracterização da seca constitui um passo indispensável para o estabelecimento de qualquer programa de melhoramento de adaptação à seca, tendo os caracteres morfo-fisiológicos como objecto da selecção, pois entre outras coisas, permite avaliar o real interesse dos mecanismos de adaptação à seca em dado local e em dado sistema de cultura.

1.3 Condições de aridez e a seca em Angola

O território angolano encontra-se situado no continente africano, entre as latitudes 4-18° S, portanto dentro dos domínios daquilo que é designado por Mundo Tropical ou simplesmente Trópicos, sendo a sua maior parte praticamente localizada nas zonas de climas alternadamente húmidos e secos das regiões intertropicais de ventos alisados. Dado o facto de o território angolano se estender por entre latitudes tão diferentes apresenta uma grande diversidade de tipos climáticos, começando pelos tipos de climas associados à floresta densa húmida a Norte, passando por graus de tropofolia mais ou menos suaves até situações de deserto mas a Sul. De acordo com Serralheiro (1985), a compreensão da génese e a caracterização das condições de aridez em Angola, passa, por um lado, pelo enquadramento do seu território no esquema da circulação geral da atmosfera e, por outro, pela análise das influências dos factores fisiográficos, como sejam, a corrente fria de Benguela e a fisiografia do território.

Como consequência da circulação geral da atmosfera, verifica-se uma

diminuição das chuvas do Norte para o Sul. Este carácter da precipitação é acentuado pela corrente fria de Benguela, cujo efeito se vai atenuando para Norte, à medida que tal corrente aquece e deflecte para Ocidente, afastando-se da costa (Serralheiro 1985). As zonas do litoral, recebendo ventos vindos do Oriente, os quais foram perdendo humidade pela sua passagem pelo continente, são caracterizadas por baixas precipitações. De tudo isto resulta a ocorrência de condições de aridez, tanto mais acentuadas quanto mais próximo do litoral e mais a Sul determinada região se situar.

A alternância de estações fica explicada pela localização do centro de altas pressões do Atlântico Sul e pelo seu deslocamento anual acompanhando o movimento aparente do Sol. De acordo com Monteiro (1970), entre meados de Setembro e meados de Maio, devido à migração para Sul do centro de altas pressões do Atlântico Sul e ao mais rápido aquecimento do continente, forma-se no interior do território angolano um centro de baixas pressões. Sendo assim, para o interior angolano, nesta época do ano, dirigem-se ventos carregados de humidade, idos do oceano (o interior angolano fica exposto à acção de massas de ar equatoriais), os quais se vão expandindo e condensando sobre o continente, resultando do facto a ocorrência de aguaceiros e trovoadas de frequência e intensidade consideráveis: é a estação das chuvas. Este efeito é acentuado pela fisiografia do território, caracterizada por altitudes crescentes à medida que se caminha para o seu interior. Com efeito, as altitudes crescentes obrigam os ventos a subirem e a expandirem-se, resultando de tal facto o aumento da pluviosidade para o interior de Angola. De meados de Maio a meados de Setembro, o centro de altas pressões do Atlântico Sul migra para Norte e o interior angolano fica exposto à acção das massas de ar quente e seco que têm origem nos anticiclones subtropicais localizados sobre os continentes e, nessa altura do ano, bem evidentes: é a estação seca.

A duração relativa de cada uma das estações antes referida varia com a latitude,

isto é, verifica-se um aumento da duração da estação seca em relação à das chuvas à medida que se caminha para o Sul. Outro aspecto de grande importância na actividade agrícola é o facto de a estação das chuvas apresentar dois máximos de precipitação, um que ocorre em Dezembro (durante as chuvas grandes) e outro que ocorre em Março (durante as chuvas pequenas). Os dois máximos estão separados por um mínimo em que se verifica uma quebra na precipitação, dando origem a uma pequena estação seca de duração e localização no tempo um tanto irregulares designada por “pequeno cacimbo”. Também à medida que se caminha para o sul, verifica-se uma redução do tempo das épocas das grandes e pequenas chuvas, as quais tendem a fundir-se numa única e, por via desse facto, a eliminação do “pequeno cacimbo”. Se em alguns casos a presença do “pequeno cacimbo” não chega a notar-se, em outros tem duração que compromete decisivamente as culturas de sequeiro. Neste último aspecto reside a nossa preocupação, pois tem-se notado, nos últimos tempos, uma tendência de aumento da regularidade e da duração deste período, como aliás já foi referido por Rela (1992). Também é de destacar neste espaço, a referência de Marcelino (1973) sobre a ocorrência de períodos de ausência de precipitação, em Novembro, após a realização das sementeiras das grandes chuvas quando tudo levava a crer que elas já tinham pegado, as quais apanhando as plantas “desprevenidas” põem em perigo as culturas de sequeiro.

Uma vez apresentadas as condições de aridez, o que se propõe a seguir é a análise da sua relação com o “stress” hídrico, na medida em que podem ocorrer condições de aridez sem que contudo haja “stress” hídrico. Para que este aconteça, é necessário também que haja necessidade da água como recurso natural utilizado pelas plantas para o seu crescimento e desenvolvimento. Sempre que as necessidades em água (procura) excederem as suas disponibilidades (oferta) haverá um “stress” hídrico. Valerá a pena portanto, antes de mais averiguar como as condições de aridez se

associam com as necessidades hídricas nos diferentes condicionalismos em que a actividade agrícola é exercida em Angola.

Depois de falhada a tentativa que visava a implementação de um modelo centralizado de produção, hoje a fisionomia agrícola do país tende a estabilizar-se no modelo que a caracterizou até 1974, em que os intervenientes podem ser agrupados em dois sectores: o empresarial e o tradicional. O sector tradicional, engloba a esmagadora maioria da população angolana e sobre ele recai a maior parte da produção dos chamados produtos pobres, como o milho, a crueira o amendoim (jinguba) e outros. Dado o seu atraso tecnológico e a falta de recursos económicos é também o sector mais sensível aos problemas resultantes do “stress” hídrico. A sua actividade decorre ao longo do ano e a ele estão associados dois sistemas de cultura: o de sequeiro e o de regadio (“agricultura do cacimbo”).

A agricultura de sequeiro, quantitativamente mais importante que a de regadio, diz respeito à actividade agrícola que decorre durante a estação das chuvas em lavras situadas nos “plateaux” e encostas. Tal actividade abrange um grande leque de culturas, de entre as quais a jinguba, e é desenvolvida ao sabor das chuvas. É uma época que pode proporcionar fartura desde que o “pequeno cacimbo” e a ausência de chuvas, após as sementeiras das chuvas grandes, não se revelem de grande importância para o normal desenvolvimento das culturas. Nesta altura do ano, os terrenos que marginam o leito de alguns rios estão completamente alagados como resultado da precipitação que não foi retida nas zonas de cota mais elevada, não sendo por isso aproveitados para a prática agrícola. Por outro lado, e em consequência deste facto, estas baixas sofrem um enriquecimento através do enateiramento e por acumulação de detritos, formando-se, em consequência disto, solos coluvionais muito férteis, designados por hortas, nacas (em umbundo, região do Huambo) ou hongas (em kimbundo, região de Malange).

No “cacimbo”, os “plateaux” e as encostas não podem ser utilizadas para a exploração agrícola, dada a inexistência das chuvas e o facto de o lençol freático ter baixado consideravelmente. A actividade agrícola concentra-se então nas hortas, pois, embora o lençol freático tenha baixado, o solo retem ainda água suficiente para garantir o normal desenvolvimento das culturas. Há o perigo de ocorrerem desidratações na parte final do ciclo cultural.

À guisa de conclusão, pode-se dizer que a seca agrícola em Angola é um facto, colocando em perigo as culturas de sequeiro e, porque no “cacimbo” a água não está disponível para as plantas excepto nas hortas, reduz consideravelmente as áreas de cultivo e por consequência a produção total. Isto no que diz respeito aos climas do tipo Aw, Cwa e Cwb, pois no que diz respeito aos climas do tipo Bsh e Bwh o problema põe-se com maior intensidade. Nas zonas sub-húmidas, a seca durante a estação chuvosa pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento da planta e tem geralmente um carácter intermitente. Este tipo de seca encontra-se associado a condições de temperatura e intensidade luminosa elevadas (atenuadas de quando em quando pela presença de nuvens). A seca do “cacimbo” apanha a parte final do ciclo cultural da planta e não apresenta intermitência. Encontra-se associada a condições de temperatura e intensidade luminosa baixas.

1.4 A cultura do amendoim no contexto alimentar das Gentes de Angola

Geralmente neste espaço, é normal falar da cultura em questão como “redentora”, apresentado-a através da enumeração, algumas vezes fastidiosa, dos benefícios possíveis e “impossíveis” decorrentes da sua exploração agrícola. Não enveredamos por esta via e falaremos da cultura em termos do que realmente ela representa.

Uma grande parte do território angolano, com menores ou maiores limitações, oferece condições favoráveis ao desenvolvimento da cultura do amendoim (ver Castanheira Diniz 1991). A quantificação relativa da área ocupada pela cultura e do montante produzido constituem também excelentes indicadores da sua importância económica e alimentar para determinada população. Contudo, não há dúvidas que o indicador mais fiel para avaliar a importância alimentar de uma dada cultura é a quantidade consumida, associada ou não à gama de utilizações a que ela se presta.

Em Angola, a jinguba não é só utilizado como “aperitivo”. Também o é, mas essencialmente é o acompanhamento ideal dos vários farináceos que fazem parte da dieta de uma grande parte da população rural angolana. Em condições normais, nas refeições leves, a dieta da população rural angolana engloba efusões de folhas, como o chá de kaxinde, e um leque, ainda assim, variado de fontes de hidratos de carbono, como sejam a mandioca, o bombó assado ou frito (mandioca previamente posta de molho e depois assada ou frita), o inhame e a batata-doce. Como farináceas que são, é enfadonho comê-los simples e é desequilibrado em termos alimentares acompanhá-los apenas com as já referidas efusões. O amendoim aparece então, para com o seu agradável sabor, cumprir com a primeira função e, com a sua riqueza em proteínas, ser o complemento proteico daqueles alimentos. Para além disso, porque rico em óleo, equilibra também a dieta através do fornecimento de gorduras, fornecedoras dos ácidos gordos essenciais e veículos das vitaminas A, D e E (lipossolúveis).

Não temos dados quantitativos disponíveis, mas podemos afirmar, com quase toda a certeza, que, em Angola, a jinguba é, logo a seguir ao feijão, a leguminosa mais utilizada e apresenta mesmo, em relação ao feijão, algumas vantagens; além de complemento proteico é também uma fonte de gorduras vegetais, é de mais fácil confecção e tem uma maior versatilidade de utilização. Em relação a isto é de ressaltar

em primeiro lugar que, embora as sementes de abóbora sejam também utilizadas, a jinguba é de facto o condimento de maior generalização, tanto geograficamente como em relação às variedades de pratos (é, por assim dizer, o “condimento nacional”). Em segundo lugar, para além disto, a jinguba cozida ou torrada acompanha o milho, a batatadoce, a mandioca e o inhame (também cozidos ou assados) e ainda o bombó assado. A sua importância é tanto mais evidente se ressaltarmos o facto de que cada uma destas combinações constituírem, em muitos casos, refeições completas de muita gente do nosso mundo rural. Também pode ser comido só (cru, cozido ou torrado no intervalo das refeições) ou ainda como confeitado (doce de jinguba e a “paracuca, muito do agrado das crianças de Luanda). Em cru, e com mandioca também em cru, aconselha o saber popular (a nós competirá buscar as razões e não recusá-lo por complexos elitistas) como alimento rico para as mães que amamentam.

Para além destas utilizações, existe uma que merece destaque especial: a manteiga de amendoim, por ser industrializada e com aceitação por exemplo nos Estados Unidos. Acontece que as populações de Angola, há muito que utilizam na sua dieta um preparado muito idêntico: a kitaba (por exemplo em Malange e Kuanza-Sul). A kitaba é na verdade jinguba torrada e esmagada até se obter uma pasta de paladar agradável que é comida com os farináceos antes referidos. Porquê então não industrializar a produção da nossa kitaba, em vez de importarmos manteiga de amendoim? Estas são para já, nas actuais circunstâncias do país, as utilizações da jinguba, como “food crop” e também aquelas que têm peso específico real e efectivo na alimentação da população angolana.

Em termos de utilizações potenciais (aquelas que têm, de momento, valor hipotético), começaremos por nos referir à produção e consumo local de óleo de amendoim. A produção do óleo de amendoim é uma hipótese a encarar apenas a médio

e longo prazo, já que nos parece não ser possível nos tempos mais próximos a recuperação de todo o sistema necessário para a sua produção. Baseando-se nestes argumentos, pode-se dizer o mesmo em relação ao aproveitamento do bagaço (resultante da extracção do óleo) na alimentação animal.

A jinguba tem de facto importância real no equilíbrio da dieta da população angolana. Contudo, e como todas as plantas, tem as suas idiossincrasias e as suas dificuldades. Reparemos que o próprio trigo - planta sagrada por excelência - as tem, exige microtermia, é susceptível a doenças, tem curtose, mas única e tem cálcio quelatizado por excesso de fósforo. Tal como este, a jinguba precisa de cuidados e correcções: as sementes com altas concentrações proteicas doseiam elas próprias teores elevados de gordura (Ferrão *et al.* 1987; Ferrão 1992), apresentam problemas decorrentes da presença da aflotoxina (Pinto 1985). Porém, um enquadramento adequado na dieta das pessoas e práticas culturais correctas constituem vias para solucionar tais problemas.

1.5 Os mecanismos de resistência das plantas à seca: breve abordagem numa perspectiva da sua utilização no desenvolvimento de métodos de selecção em Angola

A luta contra a seca passa pela utilização de práticas culturais adequadas, como por exemplo a irrigação, e a utilização de cultivares mais resistentes. A irrigação, mais compatível com as grandes superfícies e um certo suporte financeiro (características do sector empresarial), pode ser a alternativa para este sector. O mesmo já não se poderá dizer em relação ao sector tradicional, sobre quem recai a maior parte da produção desta cultura. Os fracos recursos e a pulverização da sua actividade em pequenas lavras são factores impeditivos. Para o sector tradicional, a solução passa pela selecção e utilização

das cultivares melhor adaptadas à seca.

A selecção de génotipos resistentes à seca passa necessariamente pela adopção de estratégias e métodos adequados, cuja escolha depende do nível geral de conhecimentos, requisitos laboratoriais, disponibilidade de mão-de-obra e da articulação das instituições de investigação com os centros de decisão. Nos países em vias de desenvolvimento, como é o caso de Angola, e porque nos encontramos numa fase de rearranque, interessará sobretudo a utilização de métodos simples - que não sejam muito exigentes em termos de pessoal qualificado e de laboratórios - e de grande impacto. Depois de se ganhar uma certa receptividade por parte de quem decide os financiamentos, poder-se-á então avançar para métodos cada vez mais exigentes. Também, e isto é muito importante, não se pode descurar a integração dos nossos trabalhos em projectos internacionais, como forma de adquirir e actualizar o nosso "know how" e ter, por ventura, a possibilidade de utilizar em projectos locais, aparelhos cuja aquisição seja muito dispendiosa para as nossas reais possibilidades.

A resistência à seca é determinada por um conjunto de características morfológicas, anatómicas, fisiológicas e bioquímicas (Ahamadi e Puard 1984, Khalfaoui e Annerose 1986), mais ou menos específicas para cada espécie (Khalfaoui 1985). Sendo assim, a selecção de génotipos resistentes, resume-se, no fundo, ao aproveitamento das informações que a natureza nos oferece, facto bem ilustrado nesta afirmação de Blum *et al.* (1981) em relação ao trigo: "The genetic improvement of wheat for conditions of drought stress requires an evaluation of specific physiological attributes related to drought resistance, as a basis for developing a working screening procedure". Uma vez realçado este aspecto, valerá então a pena, fazer um resumo dos diferentes mecanismos de resistência à seca, numa perspectiva da sua utilização, como base para a adopção de métodos mais adequados à selecção de génotipos resistentes nas

condições de Angola.

A natureza da resistência à seca foi e continua a ser objecto de estudo de vários investigadores e um dos modelos mais detalhados é da autoria de Levitt (1980), em que as várias respostas das plantas aparecem agrupadas em três estratégias de resistência à seca, as quais correspondem às plantas que escapam a seca (“drought escape”), plantas que toleram a seca com elevados potenciais hídricos (“drought avoidance”) e plantas que toleram a seca com baixos potenciais hídricos (“drought tolerance”). Que metodologias poderemos, então, utilizar (ao nível das nossas possibilidades) para identificar os mecanismos de resistência à seca das culturas, entre as quais a jinguba (a nossa “test plant”)?

A análise de crescimento, como metodologia pouco exigente em recursos laboratoriais e pessoal qualificado, pode ser adoptada na pesquisa de genótipos resistentes à seca. Através dela pode-se identificar atributos relacionados com mecanismos de resistência do tipo “escape” e do tipo “avoidance”.

A análise de crescimento permite avaliar a duração do ciclo cultural, em condições normais e de seca, e portanto ter uma ideia do grau de “escape” das plantas em estudo. O “escape”, desenvolvimento fenológico rápido, nas condições de Angola será uma estratégia a considerar por exemplo para as culturas das pequenas chuvas (sementeiras de Fevereiro-Março), pois as cvs. mais precoces não correm o risco de prolongarem o seu ciclo de vida para além da época das chuvas. Em relação às sementeiras das grandes chuvas (Setembro-Novembro), terá pouca importância nos anos em que as secas de Novembro e do “pequeno cacimbo” forem de grande importância. Nestas circunstâncias, o recurso a mecanismos de defesa do tipo “avoidance” ou “tolerance” pode ser a via mais eficaz.

“Drought avoidance”, de acordo com Ludlow (1987), consiste numa estratégia

em que as plantas promovem um conjunto de respostas que lhes permite não expor os seus protoplasmas a desidratações severas. A alteração da razão raiz/parte aérea, como resultado do aumento da biomassa radicular e redução da biomassa foliar, pode permitir à planta uma melhor conservação da água e um certo atraso na “instalação” do “stress” hídrico. Um dos campos de intervenção da análise de crescimento é precisamente o de permitir analisar o efeito de factores adversos, tais como a seca, sobre a partição dos assimilados, sendo por isso uma metodologia adequada para ajudar a diferenciar génotipos relativamente à sua capacidade de conservação da água. A estes estudos podem-se associar estudos de quantificação do consumo de água, o que permitirá obter informação sobre a evolução da transpiração da planta inteira e da eficiência do uso da água (WUE). Os dois parâmetros podem ser utilizados como índices de resistência à seca. A evolução da transpiração ao longo de um dado período de seca fornece-nos indicações sobre a “habilidade” da planta em gerir a água de que dispõe e em última instância sobre o tempo necessário para a esgotá-la, sendo esta característica utilizada como critério de resistência à seca (McCree 1989, Nunes 1967). A WUE tem a limitação de não nos poder fornecer muita informação sobre a competitividade ou vantagens de um génotipo sobre o outro, em termos de produção, já que o aumento da WUE pode significar uma restrição do crescimento (Hubick *et al.* 1986). Tem contudo a virtude de nos poder dar uma ideia da variação genotípica quanto à capacidade de produzir matéria seca por unidade de água transpirada, facto de capital importância para a sobrevivência e produtividade das plantas que se desenvolvem, em condições de seca, sendo por isso a sua determinação utilizada como precioso instrumento nos trabalhos de selecção varietal (McCreen *et al.* 1989, Bethenod *et al.* 1991, Read *et al.* 1991, Ehadie *et al.* 1993, Wright *et al.* 1994). Para além da redução das perdas de água, via inibição do crescimento foliar, há ainda que considerar a senescência foliar (também

quantificada pela análise de crescimento).

O estratégia do “drought avoidance” tem no controlo estomático a sua principal componente. Contudo, o fecho dos estomas a longo prazo pode-se revelar nefasto para a planta, pois conduz a um decréscimo na taxa do processo do qual em última instância depende o crescimento vegetal e a produção da biomassa: a fotossíntese (através da redução na absorção de CO₂, do aumento da temperatura foliar e do estímulo da produção de radicais livres de oxigénio). A análise de crescimento também permite quantificar os efeitos da seca sobre as taxas de crescimento e sobre a produção da biomassa total e a partir destes obter informação sobre as diferentes estratégias de crescimento utilizadas pelas plantas no sentido de melhor se defenderem contra a seca.

A estrutura do mesófilo, concretamente a sua densidade, tem importância na conservação da água. Um mesófilo compacto e com poucos espaços intercelulares, embora seja mais dispendioso em termos energéticos, é em princípio relativamente mais eficaz em termos de redução da transpiração e em termos de taxas fotossintéticas, neste último caso, se a maior densidade estiver associada à um maior número de cloroplastos. Informações sobre a densidade do mesófilo podem ser obtidas via análise de crescimento através da quantificação da área foliar específica. É evidente que existem outros métodos para obter informação mais precisa sobre esta característica anatómica e sobre a espessura e natureza química da cutícula; têm contudo a desvantagem de requererem procedimentos mais exigentes.

A análise de crescimento tem as suas limitações, exige uma grande uniformidade do material vegetal em estudo, consome muito tempo, ocupa muito espaço e muita mão-de-obra, para além do facto de, dada a diversidade dos atributos da resistência à seca, não poder abarcar todos aspectos envolvidos na selecção de genótipos resistentes a este “stress” ambiental.

Ensaio mais simples, ao alcance das nossas possibilidades, necessitando apenas de uma observação cuidadosa, podem fornecer informações importantes sobre certos mecanismos de defesa do tipo “avoidance” como sejam a tricofilia, a argentofilia e heliotrófia (via mais flexível que a senescência e a redução do crescimento foliar) e que têm como função reduzir a absorção da energia solar e conseqüentemente reduzir a transpiração, bem como, prevenir a ocorrência de situações de fotoinibição.

A maior ou menor capacidade que as plantas têm para conservarem a água pode também ser posta em evidência através de um método simples (necessita de uma balança analítica, condições estáveis de luz, temperatura e humidade): o método de Hygen (1951), do qual podemos extrair informações sobre o valor crítico do teor relativo de água ao qual se processa o encerramento estomático, e da contribuição das componentes cuticular e estomática na transpiração total.

O facto do fecho dos estomas ser das primeiras respostas à seca faz da fotossíntese um dos alvos preferenciais deste “stress” ambiental. A sua quantificação constitui um critério para a selecção varietal em relação à resistência à seca. Esta quantificação está hoje muito facilitada, graças ao aparecimento dos medidores portáteis da fotossíntese (IRGA). Estes aparelhos medem também, outros parâmetros importantes para a identificação dos atributos associados à estratégia do “drought avoidance”, nomeadamente, a condutância estomática, a transpiração e a temperatura foliar, de maneira que se podem estabelecer correlações importantes entre estes e outros parâmetros ao longo de ciclo(s) de desidratação e obter informações importantes sobre a sensibilidade à seca dos genótipos objecto de estudo. Deles podemos ainda obter informações relativamente ao efeito da seca sobre a fotossíntese líquida, o ponto de compensação para o CO₂, a eficiência da carboxilação, a eficiência quântica e a respiração às escuras. A utilização do IRGA tem a vantagem de permitir determinações

in vivo nas mais variadas condições. Tem a desvantagem de as medições serem instantâneas. Apesar do seu custo, é um aparelho em que vale a pena investir mesmo nas nossas condições.

A estratégia do “drought tolerance” é observada em plantas cujos tecidos são capazes de suportar fortes desidratações. Esta estratégia tem a ver com a estabilidade das membranas celulares aos danos provocados pela seca. Na prática tal estabilidade mede-se, através da quantificação da fuga de electrólitos em discos foliares previamente sujeitos à seca imposta de várias formas. A utilização do polietilenoglicol (Premachandra *et al.* 1987a, 1987b, 1988) tem a vantagem de impor, de forma rápida, um mesmo nível de desidratação a todos os genótipos em estudo. É uma metodologia perfeitamente ao nosso alcance.

O facto de as membranas serem constituídas fundamentalmente por lípidos e proteínas, e portanto a sua estabilidade depender, de certa forma, do teor, composição e estabilidade destes compostos, muita atenção tem sido dada aos efeitos degradativos da seca sobre os lípidos. O grau de resistência à peroxidação dos lípidos constitui uma forma de quantificar a estabilidade dos mesmos, e por consequência das membranas, ao ataque dos radicais livres de oxigénio (Price *et al.* 1991, Celikel *et al.* 1995) em condições de seca. Acontece que esta é uma forma indirecta a qual pode conduzir a interpretações incorrectas, pois em muitos casos degradação e síntese podem estar a processar-se em simultâneo. Assim sendo, a quantificação dos lípidos das membranas tilacoidais será o processo mais directo, podendo ser utilizada nas nossas condições, uma vez ponderadas certas questões de natureza técnica e financeira. O mesmo pode ser dito em relação às proteínas, cuja determinação é relativamente mais fácil.

Durante a seca, dado o fluxo carboxilativo não acompanhar o fluxo fotónico, criam-se condições de excesso de energia com consequências negativas para o normal

desenvolvimento das plantas, dado os danos causados às membranas celulares pelos radicais livres de oxigénio. As plantas defendem-se através de mecanismos que conduzem à diminuição da quantidade de radiação solar absorvida (tricotília, a argentofília e heliotrofília, dos quais já falámos), de mecanismos que têm por função dissipar o excesso de energia absorvida ou ainda que têm como função eliminar as formas altamente reactivas que se possam formar.

A importância da utilização da técnica da fluorescência da Chl *a* reside no facto de permitir estudar a planta *in vivo*, nas mais diversas situações, e obter informação sobre os problemas ocorridos nos vários “sectores” responsáveis pela transformação da energia fotónica em energia química (por exemplo as antenas e os centros de reacção do PSII), o que poderá ajudar a classificar o material vegetal no que respeita à sua resistência à seca. Esta técnica exige a disponibilidade de um aparelho, que é caro e de utilização muito específica. Contudo, o volume de informações que nos pode fornecer aconselha a sua utilização ainda mesmo na fase inicial dos projectos.

Os estudos sobre os mecanismos de dissipação de energia podem ser complementados com a determinação do teor de carotenóides, das taxas de transporte de electrões da fotossíntese (reacções de Hill e Mehler em suspensões cloroplásticas) e da concentração de componentes da cadeia de transporte de electrões (PQ-9 e cits *b_{559HP}*, *b_{559LP}*, *b₅₆₃* e *f*). Estas determinações fornecem igualmente informações acerca do efeito da seca sobre o transporte de electrões da água para a ferredoxina e permitem ainda tirar ilações sobre a actividade do ciclo de dissipação de energia envolvendo o PSII e a fotofosforilação cíclica. Acontece que, num futuro próximo, não nos parece ser fácil reunir os meios humanos e laboratoriais necessários à implementação bem sucedida destas metodologias, principalmente a que tem como objectivo a determinação das reacções de Hill e Mehler.

A estabilidade da capacidade fotossintética é também utilizada como um indicador da resistência à seca. Este parâmetro é determinado através de métodos polarográficos (electródo de oxigénio). Tais determinações não permitem uma grande volume de informação, são morosas e feitas em discos foliares (portanto, não são *in vivo*).

Outra via, também muito utilizada (Navari-Izzo *et al.* 1993, Zhang *et al.* 1994, Allen 1995, Brown *et al.* 1995, Sgherri *et al.* 1995), diz respeito à análise do efeito da seca sobre a produção e controlo dos radicais livres de oxigénio através da quantificação da actividade das enzimas envolvidas em tais processos, como por exemplo a catalase, a superóxido dismutase, a ascorbato peroxidase e a glutathione reductase. Estas determinações são morosas, exigem uma certa rotina e pessoal qualificado, o que desencoraja a sua utilização num futuro muito próximo.

A recuperação das actividades fisiológicas após a reidratação reflecte o balanço entre a necessidade de reconstrução das estruturas danificadas pela seca e a sua reactivação (Moreira *et al.* 1990) e pode ser utilizada para a avaliação da estabilidade das membranas celulares e da fotossíntese líquida, utilizando para o efeito um IRGA ou um fluorímetro.

As curvas que relacionam o teor hídrico relativo com o potencial hídrico e seus componentes permitem-nos obter informações sobre o grau de “drought tolerance” e “drought avoidance” das plantas. De acordo com vários autores (Sanchez-Dias e Kramer 1971, Jones *et al.* 1981, Ritcher e Kikuta 1989, Turner e Henson 1989), as plantas que resistem à seca com baixos potenciais hídricos e com paredes rígidas apresentam desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “tolerance”, enquanto que as plantas que resistem à seca com altos potenciais hídricos e possuem paredes elásticas apresentam desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “avoidance”.

O instrumento utilizado é a câmara de pressão (Scholander *et al.* 1965), muito importante no estudo das relações hídricas e portanto uma prioridade (mesmo nas nossas condições).

O ajuste osmótico tem sido utilizados como indicador da resistência à seca (Lesley 1981, Morgan 1983, Manns 1988, Premachandra *et al.* 1992, Wang *et al.* 1993). A determinação do potencial osmótico e da concentração de certos solutos, nomeadamente açúcares solúveis e prolina, podem dar-nos uma ideia da sua magnitude. Estas determinações constituem também uma prioridade com grandes probabilidades de materialização a curto prazo.

1.6 Bibliografia

Ahamadi N. & Puard M. 1984. Comportements hydriques de deux types variétaux de riz à l'égard des potentials décroissants de l'eau dans le milieu nutritif. *L'Agronomie Tropicale* 39: 236-242.

Annerose D.J.M. & Diagne M. (1990). Caractérisation de la sécheresse agronomique en zone semi-aride. 1. Presentation d'un modèle simple d'évaluation appliqué au cas de l'arachide cultivée au Sénégal. *Oleagineux* 45: 547-554.

Blum A., Gozlan G. & Mayer J. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germoplasm. *Crop Sci.* 21: 495-499.

Borowitzka L.J. 1981. Solute accumulation and regulation of cell water activity. In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 97-104. Academic Press, Sydney, Australia.

Brown P.S., Knievel D.P. & Pell E.V. 1995. Effects of moderate drought on ascorbate peroxidase and glutathione reductase activities in mesophyll and bundle sheath cells of maize. *Physiol. Plant.* 95: 274-280.

Celikel F.G. & van Doorn W.G. 1995. Solute leakage, lipid peroxidation, and protein degradation during senescence of *Iris* tepals. *Physiol. Plant.* 94: 515-521.

Cunha L.V. 1982. As secas. Caracterização, impactos e mitigação. Comissão Nacional do Ambiente, Colecção o Ambiente e o Homem, Lisboa, Portugal.

Dinis C.A. 1991. Angola, o meio físico e potencialidades agrárias. Instituto para a Cooperação Económica, Lisboa, Portugal.

Ferrão J. & Xabregas J. 1960. Investigações agronómicas nacionais no âmbito da nutrição alimentar em África. *Agronomia Angolana* 12:61-95.

Ferrão J.E.M., Ferrão A.M.B. & Antunes A.M.C. 1987. A mancarra dos Bijagós (*Vigna subterranea*). Aspectos do seu valor nutricional. *Garcia de Orta, Sér. Est. Agron.* 14: 35-39.

Ferrão J.E.M. 1992. A aventura das plantas e os descobrimentos portugueses. Instituto de Investigação Científica Tropical, Comissão para as Comemorações dos Descobrimentos Portugueses, Fundação Berardo, Lisboa, Portugal.

Hygen G. 1951. Studies in plant transpiration. I *Physiol. Plant.* 4: 57-183.

Jones M.M., Turner N.C. & Osmond C.B. 1981. Mechanisms of drought resistance. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinal, eds.), pp. 15-35. Academic Press, Sydney, Australia.

Khalfaoui J.-L. B. 1985. Conduite de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse en fonction de ses mécanismes physiologiques. *Oleagineux* 40(6): 329-332.

Khalfaoui J.L.B. & Annerose D. 1986. Création variétale d'arachide adaptée aux contraintes pluviométriques des zones semi-arides. *In Proceedings of an International Symposium* (ICRISAT, ed), pp.127-134. Niamey, Índia.

Levitt 1980. Response of plants to environmental stresses 2nd ed., Vol. 2. Academic Press, New York, USA.

Ludlow M.M. 1987. Strategies of response to water stress. Structural and functional response to environmental stresses: water shortage. *In Abstracts of XIV International Botanical Congress* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 269-282. Berlin (West), Germany.

Marcelino F.A.B. 1973. Zonagem do Milho de sequeiro em Angola. Primeira Aproximação. Instituto de Investigação Agronómica de Angola. Série Científica nº 29. Nova Lisboa, Angola.

McCree K.J. & Fernandez C.J. 1989. Simulation model for studying physiological water stress response of whole plants. *Crop Sci.* 29:353-360.

Monteiro R.F.R. 1970. Estudo da flora e da vegetação das florestas abertas do planalto do Bié. Instituto de Investigação Científica de Angola, Luanda, Angola.

Morgan J.M. 1983. Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 34:607-614.

Morgan J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 299-319.

Moreira T., Henriques F.S., Matos M.C. & Campos, P. 1990. Protoplasmic drought resistance and water use efficiency. *Bull. Soc. Bot. Franc.* 137: 81-89,

Navari-Izzo F., Milone M.T.A., Quartacci M.F. & Pinzino C. 1993. Metabolic changes in wheat plants subjected to water-deficit stress programme. *Plant Sci.* 92: 151-157.

Nunes M.A. 1967. Um estudo comparativo de resistência à secura em cacauzeiro. *Garcia de Orta* 15: 361-366.

Pinto O.R. 1985. Ensaio preliminares com amendoim, *Arachis hypogaea* L. Estação Agronómica Nacional, Oeiras, Portugal.

Price A.H. & Hendry G.A.F. 1991. Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environ.* 14: 477-484.

Premachandra G.S. & Shimad T. 1987a. The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as a drought tolerance test in wheat. *Japon. J. Crop Sci.* 56: 92-987

Premachandra G.S. & Shimad T. 1987b. Measurement of drought tolerance in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). I - polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability. *J. Japon. Soci. Grassland Sci.* 33: 140-147.

Premachandra G.S. & Shimad T. 1988. Evaluation of polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability as a drought tolerance test in wheat. *J. agric., Camb.* 110: 2000-2005.

Premachandra G.S., Saneoka H. Fujita K. & Ogata S. 1992. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. *J. Ex. Bot.* 43: 1451-1456.

Rela J.M.Z. 1992. Angola entre o presente e o futuro. Escher e Agropromotora (eds). Coleção estudos sobre a África nº6, Lisboa, Portugal.

Scholander P.F., Hammel H.T., Hemingsen E.A., Bradstreet E.D. 1964. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339-346.

Serralheiro R.P. 1985. Hidráulica Agrícola I (2ª edição). Universidade de Angola, Faculdade de Ciências Agrárias, Huambo, Angola.

Shgerri C.L.M. & Navari-Izzo F. 1995. Sunflower seedlings subject to increasing water

stress: oxidative stress and defence mechanisms. *Physiol. Plant.* 93: 25-30.

Zhang J. & Kirkham M.B. 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol.* 35: 785-791.

Wang Z., Quebedeaux B. & Stutte G.W. 1995. Osmotic adjustment: effect of water stress on carbohydrates in leaves, stems and roots of apple. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 747-754.



CAPÍTULO 2

ASPECTOS ONTOGÊNICOS, MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS: SUAS IMPLICAÇÕES NA RESISTÊNCIA À SECA

2.1 INTRODUÇÃO

Muito embora se dê mais atenção aos aspectos fisiológicos, o certo é que não se deve perder de vista que a sobrevivência e a produtividade das plantas em condições de seca só é possível mediante uma resposta integrada das mesmas, envolvendo, nomeadamente, as componentes fisiológica, morfológica e anatômica. Contudo, dada a natureza do estudo destes três níveis de organização, as tentativas para uma melhor compreensão do funcionamento das plantas tendem a centrar-se mais nos seus processos internos do que nas estruturas nas quais eles se desenvolvem. Por isso, segundo Kaoru e Rayan (1990), Hodgson *et al.* (1993), Hudak e Patterson (1995), o significado dos atributos morfo-anatômicos têm sido subvalorizados, isto apesar de serem capazes de nos fornecerem de forma antecipada informações preciosas do âmbito fisiológico e

ecológico.

A natureza dos caracteres morfológicos e anatómicos, bem como a sua evolução ontogénica reflectem estratégias de sobrevivência, que mais não são do que experiências evolutivas no sentido da adaptação dos vegetais às condições ambientais prevaletentes nas mais diferentes regiões do globo. Por estes factos, e no que diz respeito à seca, dada a influência dos factores antes mencionados sobre a maior ou menor predisposição dos génotipos a este importante constrangimento da produção agrícola, pretende-se, neste capítulo, fazer a caracterização ontogénica, morfológica e anatómica das cvs. em estudo, para *a posteriori* inferir sobre a capacidade de adaptação à seca.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Germinação, repicagem, condições gerais de crescimento e realização das colheitas

A germinação ocorreu em placas de Petri, colocadas numa estufa durante três dias à temperatura de 25°C, conforme Annerose (1990). As sementes assim germinadas foram depois repicadas, uma por vaso de 1,5 L, contendo um substrato constituído por uma mistura de Trio-hum e vermiculite numa proporção de 5:4. Os vasos foram colocados em cima de bancadas móveis com cerca de 1m de altura. A capacidade de vaso ("CC") foi determinada pesando os vasos 24 horas após terem sido regados até à escorrência e deixados à sombra, de acordo com Matos *et al.* (1983).

As plantas desenvolveram-se, em condições próximas das naturais, de Junho a Setembro, numa estufa com redes laterais, de forma a permitir uma melhor circulação do ar. Semanalmente era-lhes fornecida uma solução nutritiva (Hoagland e Snyder 1933), sendo regadas sempre que necessário, para que se mantivessem em boas condições hídricas, isto é, próximo de 90% da "CC".

Foram realizadas três colheitas, aos 30, 40 e 70 dias depois da repicagem. As plantas foram retiradas dos vasos com todo o cuidado possível para minimizar as perdas

de material radicular. Depois, cada uma delas foi separada nas suas partes constituintes, isto é, raiz, caule, folhas e frutos (a partir do momento em que passaram a existir). Todo este material vegetal foi colocado, separadamente, em cartuchos de papel perfurados, previamente preparados e contendo toda a informação necessária para a sua identificação. Os cartuchos foram, em seguida, colocados a secar numa estufa a 60 °C, durante 48 horas, após o que se procedeu à determinação do seu peso seco numa balança analítica. Assim foram quantificadas a biomassa radicular (W_R), caulinar (W_C) e foliar (W_F). Com base nesses parâmetros, calculou-se a biomassa total acumulada ou matéria seca total ou ainda simplesmente biomassa total (TDM) e as razões raiz/parte aérea e folhas/caules. O peso das vagens foi determinado após secagem das mesmas ao ar livre. A determinação do peso de 100 grãos (P) foi feita pesando amostras constituídas cada uma por 100 sementes.

2.2.2 Determinação da área foliar e do número de folhas

A área foliar (A_F), assim como o número de folhas (N_F) foram determinados utilizando para o efeito um medidor automático de área foliar (Mk2, Delta T Device, England).

2.2.3 Cálculo dos índices de crescimento

Para o estudo da produção de matéria seca, sua partição pelos diferentes órgãos das plantas e taxas de crescimento, em cada colheita, utilizou-se o método clássico de análise de crescimento proposto por Kvet *et. al.* (1971). Os incrementos de biomassa entre as colheitas (dw) foram calculados pela diferença de peso seco (P_s) entre elas e expressos em gramas (g). A área foliar específica (SLA) foi calculada pela razão entre a área da folha e o peso seco correspondente, sendo portanto expressa em unidades de

área por unidade de peso ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$). A razão de peso foliar (LWR) foi calculado pela razão entre o P_s das folhas e o P_s total da planta, sendo portanto expressa em unidades de peso por unidade de peso (g g^{-1}), enquanto que a razão de área foliar (LAR) foi calculada pelo quociente entre a área foliar e o P_s total da planta e expressa em unidades de área por unidade de peso ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$). A taxa líquida de assimilação ou taxa de assimilação aparente (NAR) foi calculada pela razão entre o dw entre as colheitas em questão e o produto entre a área foliar e o tempo (em dias) decorrido entre essas colheitas, sendo por conseguinte expressa em unidades de peso por unidade de área e de tempo ($\text{g m}^{-2} \text{dia}^{-1}$). A duração da área foliar (LAD) foi calculada através do produto da área foliar média das duas colheitas em questão $(A1+A2)/2$ pelo número de dias entre elas, sendo portanto expressa em $\text{dm}^2 \text{dia}$. Finalmente, a taxa relativa de crescimento (RGR) foi calculada pelo produto entre o NAR e o LAR, sendo portanto expresso em unidades de peso por unidade de peso e de tempo ($\text{mg g}^{-1} \text{dia}^{-1}$).

2.2.4 Determinação das trocas gasosas

A determinação da condutância (g_s) e da taxa de fotossíntese líquida (P_n) foi efectuada utilizando para o efeito um Sistema Portátil de Medição de Trocas Gasosas (LI - 6200, Licor, Lincoln USA).

A água consumida por vaso (AC) foi determinada gravimetricamente (conforme se descreverá pormenorizadamente no Capítulo 4). A eficiência do uso da água a longo prazo (WUE) foi calculada pela razão entre a produção da biomassa, expressa em g, e a água consumida, expressa em kg (conforme se descreverá pormenorizadamente no Capítulo 4).

A capacidade fotossintética (A_{max}) foi determinada num eléctrodo de oxigénio (LD2, Hansatech, Kings Lynn, UK) em 5 discos foliares totalizando uma área de 2,5

cm², os quais foram sujeitos a condições saturantes de CO₂ (≈ 7 e 15%) e luz saturante (1800 μmol m⁻² s⁻¹). As determinações foram realizadas a uma temperatura estabilizada de 25 °C. O CO₂ foi fornecido a partir de 400 μl de tampão de carbonato/bicarbonato (2M). Por vezes, a quantidade de CO₂ fornecida pelo tampão pode não ser suficiente para vencer completamente a barreira estomática, nas plantas em “stress”, e por outro lado, elevadas concentrações de CO₂ podem ter efeitos inibitórios nas plantas testemunha. Por estes motivos fez-se um teste prévio para determinação da concentração de CO₂ realmente saturante nos dois tratamentos tendo-se chegado à conclusão de que o tampão era suficiente para que os discos das plantas testemunha atingissem a saturação, enquanto que aos discos das plantas em “stress” era preciso um fluxo adicional de CO₂, para perfazer uma concentração de 15%.

2.2.5 Determinação da frequência estomática

A contagem dos estomas foi feita em folhas bem desenvolvidas. Para tal, utilizaram-se moldes da epiderme dos folíolos obtidos com a ajuda de verniz. Com estes moldes, fizeram-se preparações simples, as quais foram posteriormente observadas num microscópio óptico com uma ampliação 250x para contagem dos estomas, sendo o número destes expressos por mm².

2.2.6 Observação dos tropismos e coloração das páginas das folhas

A observação dos tropismos e coloração das páginas das folhas foi registada em fotografias obtidas através de uma câmara fotográfica e reveladas segundo os métodos convencionais.

2.2.7 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados, aplicou-se, aos parâmetros estudados, uma análise de variância (ANOVA) com dois factores com um nível de confiança de 95%. Baseado nos resultados da ANOVA, utilizou-se o teste de Tukey para a comparação de médias entre os genótipos (*r, s, t*) ou dias após a repicagem (*a, b, c*).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Algumas características fisiológicas e agronômicas das cvs. estudadas

Tab. 2.1 Algumas características fisiológicas e agronômicas das cvs. estudadas, nomeadamente o peso de 100 grãos (P, g), produção de vagens por planta (peso determinado após secagem das mesmas e expresso em g), capacidade fotossintética ($A_{m\acute{a}x}$, $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de fotossíntese líquida (P_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), água consumida (AC, g de H₂O), eficiência uso do uso da água (WUE, g de matéria seca produzida por kg de água consumida). Cada valor representa a média \pm SE (n=5).

Cv.	P	Produção (vagens)	$A_{m\acute{a}x}$	g_s	P_n	AC	WUE
57-422	59 \pm 0	1,7 \pm 0.1	35 \pm 0	544 \pm 5	16 \pm 0	0,95 \pm 0.0	4,2 \pm 0,0
73-30	41 \pm 1	0,6 \pm 0.1	29 \pm 1	287 \pm 5	9 \pm 0	0,58 \pm 0.1	3,8 \pm 0,3
GC 8-35	37 \pm 0	1,7 \pm 0.1	40 \pm 2	452 \pm 6	14 \pm 1	0,76 \pm 0.1	2,9 \pm 0,2

Relativamente ao P, uma forma para avaliar a quantidade de reservas da semente, a cv. 57-422 diferenciou-se das outras por ter apresentado os valores mais elevados (Tab. 2.1). No tocante a $A_{m\acute{a}x}$, g_s , P_n e AC, as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram os maiores valores, o mesmo acontecendo também em relação à produção de vagens (Tab. 2.1). Os maiores valores de WUE verificaram-se nas cvs. 57-422 e 73-30.

2.3.2 Evolução da biomassa total e duração do ciclo cultural

Para a caracterização aproximada da duração do ciclo cultural, utilizamos a floração efectiva (quando mais de metade das plantas já se encontrava em floração) e o aparecimento das vagens. As vagens apareceram aos 70 dias (Tabs. 2.2-2.3), em 2/3 dos vasos na cv. GC 8-35 e em 1/3 dos vasos na cv. 73-30, enquanto que a cv. 57-422 foi a única que não apresentou vagens à altura da última colheita. Portanto, tendo em conta o início da floração e o aparecimento das vagens, verificou-se uma maior precocidade da GC 8-35, relativamente à 73-30, e destas duas em relação à 57-422, como aliás é seu comportamento em condições de campo (Khalfaoui, comunicação pessoal).

Tab. 2.2 Evolução do peso das vagens (fruto), da biomassa radicular (W_R), caulinar (W_C), foliar (W_F) e total (TDM) ao longo do ciclo cultural. Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre as colheitas, realizadas aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada colheita.

		Dias após a repicagem das plântulas		
Cv.		30	40	70
57-422	W_R	0,217 \pm 0,038 ^(c;r)	0,399 \pm 0,022 ^(b;r)	0,458 \pm 0,031 ^(a;r)
	W_C	0,508 \pm 0,059 ^(c;r)	1,042 \pm 0,081 ^(b;r)	2,780 \pm 0,155 ^(a;r)
	W_F	0,537 \pm 0,074 ^(c;r)	1,119 \pm 0,105 ^(b;r)	3,207 \pm 0,240 ^(a;r)
	Vagens	-	-	-
	TDM	1,263 \pm 0,170 ^(c;r)	2,532 \pm 0,192 ^(b;r)	6,446 \pm 0,364 ^(a;r)
73-30	W_R	0,268 \pm 0,014 ^(a;r)	0,271 \pm 0,006 ^(a;s)	0,282 \pm 0,025 ^(a;s)
	W_C	0,506 \pm 0,018 ^(b;r)	0,764 \pm 0,049 ^(b;s)	2,075 \pm 0,123 ^(a;s)
	W_F	0,591 \pm 0,019 ^(b;r)	0,783 \pm 0,034 ^(b;s)	1,597 \pm 0,198 ^(a;s)
	Vagens	-	-	0,023 \pm 0,001
	TDM	1,365 \pm 0,025 ^(b;r)	1,818 \pm 0,089 ^(b;s)	3,977 \pm 0,260 ^(a;s)
GC 8-35	W_R	0,201 \pm 0,010 ^(b;r)	0,251 \pm 0,019 ^(a;s)	0,288 \pm 0,014 ^(a;s)
	W_C	0,434 \pm 0,016 ^(c;r)	0,720 \pm 0,060 ^(b;s)	1,947 \pm 0,047 ^(a;s)
	W_F	0,437 \pm 0,018 ^(b;r)	0,794 \pm 0,060 ^(b;r)	1,639 \pm 0,068 ^(a;s)
	Vagens	-	-	0,065 \pm 0,010
	TDM	1,072 \pm 0,012 ^(c;r)	1,765 \pm 0,13 ^(b;s)	3,939 \pm 0,135 ^(a;s)

A TDM (Tab. 2.2) variou ao longo do ciclo cultural, tendo as cvs. apresentado, entre si, algumas diferenças. No início do referido ciclo (até à 1ª colheita) a TDM foi maior nas cvs. 73-30 e 57-422, as quais não apresentaram diferenças significativas entre si, enquanto que os menores valores foram observados na cv. GC 8-35. Mas daí até aos 70 dias, a quantidade total de biomassa acumulada pela 57-422 foi, de longe, significativamente mais elevada do que a acumulada pelas outras duas, as quais não diferiram significativamente entre si. Em termos gerais, destaca-se pois a maior acumulação de TDM, a partir da 3ª colheita (40º dia).

2.3.3 Evolução da biomassa radicular, caulinar, foliar e total ao longo do ciclo cultural

A W_R (Tab. 2.3) apresentou ao longo do ciclo cultural as menores percentagens

Tab. 2.3 Evolução da percentagem de biomassa radicular (W_R), caulinar (W_C) e foliar (W_F) ao longo do ciclo cultural. Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre as colheitas, realizadas aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada colheita.

		Dias após a repicagem das plântulas		
Cv.		30	40	70
57-422	W_R	17 \pm 0,0 ^(a;s)	15,1 \pm 0,0 ^(a;r)	7,1 \pm 0,1 ^(b;r)
	W_C	40,5 \pm 0,0 ^(a;r)	40,1 \pm 0,0 ^(a;r)	43,2 \pm 1,8 ^(a;s)
	W_F	4,5 \pm 0,0 ^(b;r)	44,1 \pm 0,0 ^(b;r)	49,7 \pm 1,7 ^(a;r)
	Vagens	-	-	-
73-30	Raiz	19,6 \pm 0,0 ^(a;r)	15,0 \pm 0,0 ^(b;r)	7,1 \pm 0,2 ^(c;r)
	Caule	37,1 \pm 0,0 ^(b;r)	41,9 \pm 0,0 ^(b;r)	52,5 \pm 3,6 ^(a;r)
	Folhas	43,3 \pm 0,02 ^(a;r)	43,1 \pm 0,0 ^(a;r)	39,9 \pm 3,1 ^(a;s)
	Vagens	-	-	0,58 \pm 0,1
GC 8-35	Raiz	18,7 \pm 0,0 ^(a;r)	14,2 \pm 0,0 ^(b;r)	7,3 \pm 0,1 ^(c;r)
	Caule	40,5 \pm 0,0 ^(b;r)	40,8 \pm 0,0 ^(b;r)	49,5 \pm 0,6 ^(a;r)
	Folhas	40,8 \pm 0,0 ^(a;r)	45,0 \pm 0,0 ^(a;r)	41,6 \pm 0,4 ^(a;s)
	Vagens	-	-	1,6 \pm 0,2

relativamente ao peso total. À 3ª colheita, a sua percentagem decresceu acentuadamente.

Verificou-se, em todas as cvs., inicialmente uma maior tendência para a produção de folhas, relativamente aos caules e depois o contrário, apenas nas cvs. 73-30 e GC 8-35

(Tab. 2.2-2.3). A cv. 57-422 apresentou uma maior W_F (Foto 2.2).

2.3.4 Evolução das razões raiz/parte aérea e folhas/caules ao longo do ciclo cultural

A razão raiz/parte aérea (Fig. 2.1) foi sempre inferior à unidade em todas as cvs. estudadas. Os seus maiores valores foram observados na cv. GC 8-35 na 1ª colheita. Na 2ª colheita, esta razão, decresceu significativamente, nas cvs. 73-30 e GC 8-35, enquanto que na cv. 57-422 ela se manteve quase inalterada. À 3ª colheita decresceu significativamente em todas as cvs.

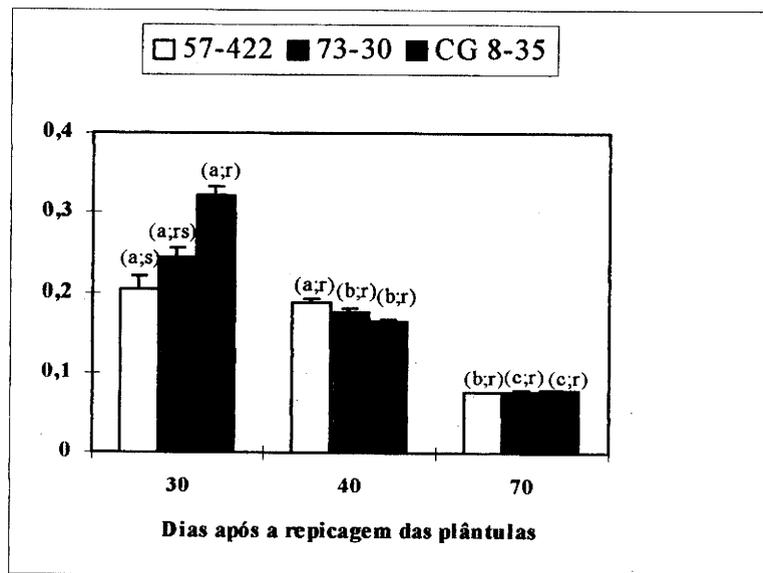


Fig. 2.1 Evolução da razão raiz/parte aérea ao longo do ciclo cultural. Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre as colheitas, realizadas aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada colheita.

A razão P_s das folhas/ P_s dos caules ou, simplesmente, razão folhas/ caules (Fig. 2.2) foi superior à unidade, em todas as cvs., até a 2ª colheita, não se tendo verificado diferenças significativas entre elas. À 3ª colheita esta razão decresceu significativamente entre elas. À 3ª colheita esta razão decresceu significativamente nas cvs. 73-30 e GC 8-35 (atingindo valores inferiores à unidade), enquanto que, na cv. 57-422, se manteve inalterada, apresentando portanto, esta cv., os maiores valores.

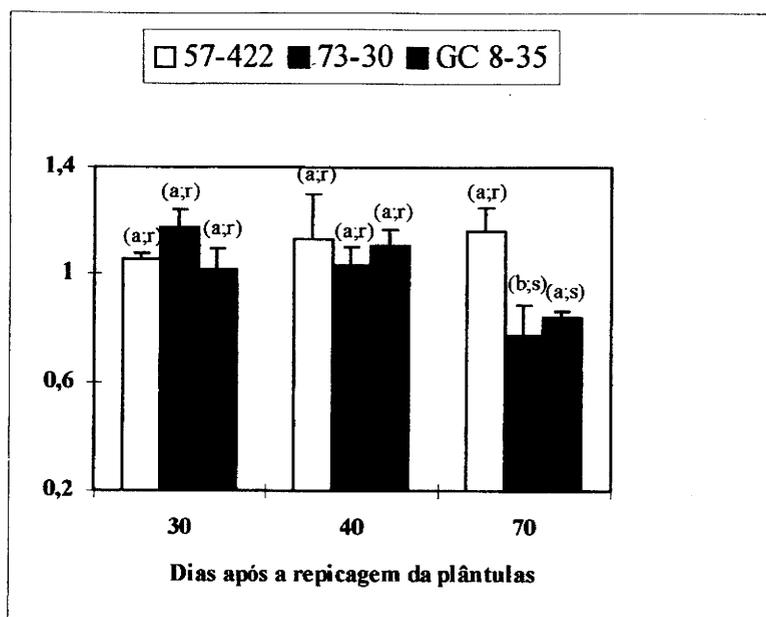


Fig. 2.2 Evolução da razão folhas/caules ao longo do ciclo cultural. Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre as colheitas, realizadas aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada colheita.

2.3.5 Evolução de alguns índices de crescimento ao longo do ciclo cultural

Em todas as cvs., o LAD aumentou com a idade das plantas (Tab. 2.4) e os

Tab. 2.4 Evolução da duração da área foliar (LAD, $\text{dm}^2 \text{ dia}$), taxa de assimilação aparente (NAR, $\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e da taxa de crescimento relativo (RGR, $\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) ao longo do ciclo cultural (entre os 30 e 40 dias e entre os 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas). Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os intervalos de tempo antes mencionados, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada intervalo de tempo.

Cv.		Dias após a repicagem das plântulas	
		30-40	40-70
57-422	LAD	15,2 \pm 1,5 ^(b;r)	96,2 \pm 7,5 ^(a;r)
	NAR	10,9 \pm 1,3 ^(a;r)	7,1 \pm 0,4 ^(b;r)
	RGR	101 \pm 10,9 ^(a;r)	52 \pm 9,7 ^(b;r)
73-30	LAD	13,3 \pm 0,9 ^(b;r)	58,0 \pm 4,7 ^(a;t)
	NAR	3,7 \pm 0,7 ^(a;s)	5,2 \pm 0,7 ^(a;rs)
	RGR	33 \pm 4,1 ^(a;t)	40 \pm 4,0 ^(a;r)
GC 8-35	LAD	14,8 \pm 0,5 ^(b;r)	76,1 \pm 3,2 ^(a;s)
	NAR	6,6 \pm 1,0 ^(a;s)	3,8 \pm 0,5 ^(b;s)
	RGR	65 \pm 10,6 ^(a;s)	41 \pm 8,5 ^(a;r)

valores mais elevados foram observados nas cvs. 57-422 e GC 8-35. No que diz respeito

a NAR (Tab. 2.4), verificou-se que este índice de crescimento decresceu significativamente com a idade das plantas nas cvs. 57-422 e GC 8-35 e não foi significativamente alterado na cv. 73-30. Na primeira fase do ciclo (30-40 dias), a cv. 57-422 apresentou as maiores taxas de RGR (Tab. 2.4). O peso inicial da GC 8-35 foi o mais baixo (Tab. 2.4) e, talvez por isso, é que, apesar de apresentar valores elevados de RGR, nesta fase do ciclo, tenha atingido valores de TDM semelhantes aos da cv. 73-30, a qual apresentou os mais baixos valores destes parâmetros. Depois, no período de tempo entre os 40 e 70 dias, o RGR da cv. 57-422 e da GC 8-35 decresceram significativamente, relativamente ao período anterior, enquanto que o da 73-30 não foi significativamente alterado. Portanto, a cv. 57-422 apresentou, relativamente às outras duas, maiores taxas de crescimento (Tab. 2.3), a maior acumulação de TDM e W_F em todas as fases do ciclo cultural (Tab. 2.2).

Tab. 2.5 Evolução da área foliar específica (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), razão do peso foliar (LWR, g g^{-1}), razão de área foliar (LAR, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$), área foliar (A_F , cm^2) e número de folhas (F_N) ao longo do ciclo cultural. Cada valor representa a média \pm SE ($n=3-5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre as colheitas, realizadas aos 30, 40 e 70 dias após a repicagem das plântulas, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada colheita.

		Dias após a repicagem das plântulas		
Cv.		30	40	70
57-422	SLA	219 \pm 17,2 ^(a;r)	167 \pm 7,4 ^(b;s)	142 \pm 0,0 ^(c;s)
	LWR	0,425 \pm 0,0 ^(b;r)	0,441 \pm 0,0 ^(b;r)	0,446 \pm 0,1 ^(a;r)
	LAR	93 \pm 6,7 ^(a;r)	74 \pm 8,3 ^(ab;s)	71 \pm 2,5 ^(b;r)
	A_F	117 \pm 14,9 ^(c;r)	186 \pm 16,0 ^(b;r)	455 \pm 34,0 ^(a;r)
	F_N	49 \pm 1,0 ^(b;r)	78 \pm 5,6 ^(b;r)	174 \pm 27,4 ^(a;r)
73-30	SLA	214 \pm 19,3 ^(a;r)	177 \pm 0,0 ^(ab;s)	155 \pm 15,1 ^(b;r)
	LWR	0,433 \pm 0,0 ^(a;r)	0,431 \pm 0,0 ^(a;r)	0,42 \pm 0,0 ^(a;s)
	LAR	93 \pm 10,9 ^(a;r)	73 \pm 3,3 ^(ab;s)	62,4 \pm 4,9 ^(b;r)
	A_F	127 \pm 15,0 ^(b;r)	139 \pm 3,5 ^(b;s)	248 \pm 30,8 ^(a;s)
	F_N	43 \pm 3,6 ^(b;r)	68 \pm 5,2 ^(b;r)	114 \pm 17,8 ^(a;s)
GC 8-35	SLA	239 \pm 4,3 ^(a;r)	245 \pm 17,0 ^(a;r)	192 \pm 5,0 ^(b;r)
	LWR	0,408 \pm 0,0 ^(a;r)	0,450 \pm 0,0 ^(a;r)	0,414 \pm 0,0 ^(a;s)
	LAR	97 \pm 1,43 ^(ab;r)	110 \pm 2,7 ^(a;r)	80 \pm 4,4 ^(b;r)
	A_F	104 \pm 2,6 ^(c;s)	193 \pm 8,4 ^(b;r)	315 \pm 21,2 ^(a;s)
	F_N	43 \pm 3,8 ^(b;r)	72 \pm 3,2 ^(b;r)	129 \pm 11,5 ^(a;s)

Em todas as cvs., a SLA apresentou uma tendência para decrescer com a idade das plantas (Tab. 2.5). As cvs. apresentaram no entanto algumas diferenças: nas cv. 57-

422 e 73-30 este decréscimo foi gradual, enquanto que na cv. GC 8-35 verificou-se apenas na 3ª colheita. A LAR apresentou uma tendência para diminuir com a idade das plantas, enquanto que a LWR, em termos gerais, apresentou uma menor variação. A área foliar e o número de folhas aumentaram com a idade das plantas (Tab. 2.5).

2.3.6 Tropismos e cor dos folíolos

As cvs. estudadas apresentaram heliotropismos (Fotos 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 e 2.5). Verificou-se que as plantas, mesmo as bem hidratadas (Fotos 2.1), apresentaram um certo paraheliotropismo, o qual foi mais acentuado em fases críticas de seca (fotos 2.2-2.3). Vinte e quatro horas após a reidratação, as plantas já se apresentaram com um excelente diaheliotropismo (Foto 2.4). As plantas apresentaram também uma diferença de cor entre as duas páginas: a página abaxial é esbranquiçada, enquanto que a adaxial é de um verde-escuro (Fotos 2.5).

Foto 2.1 – Paraheliotropismo em plantas bem reidratadas

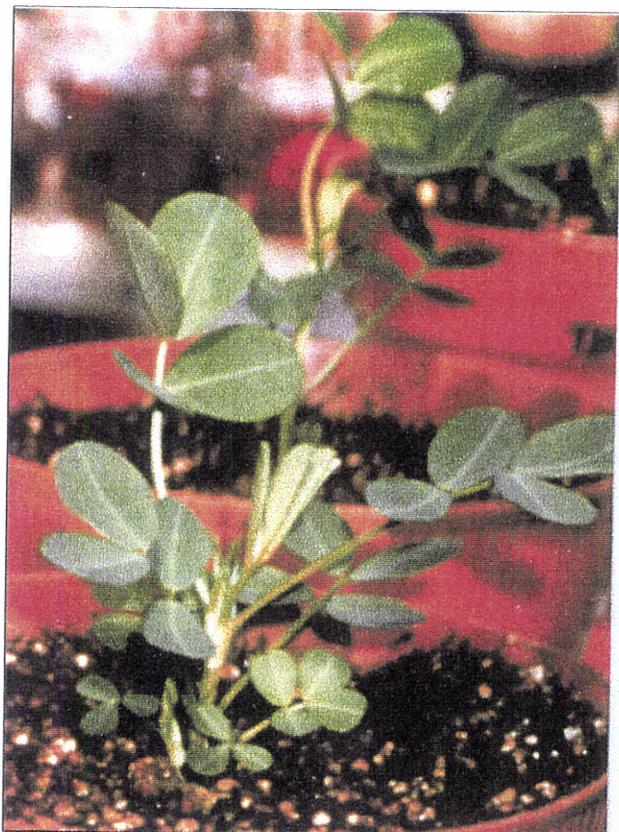


Foto 2.2 – Paraheliotropismo em plantas submetidas a condições de “stress” hídrico



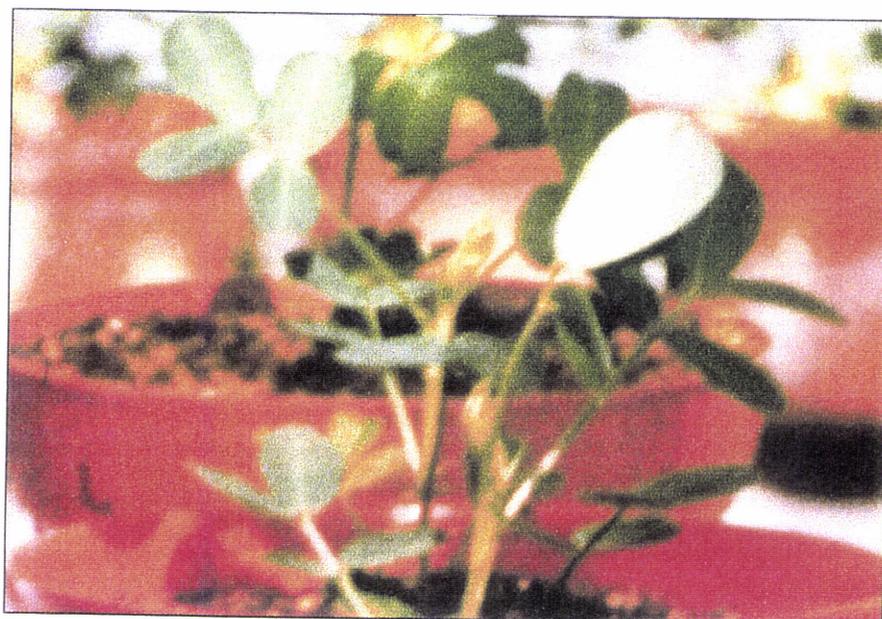
Foto 2.3 – Paraheliotropismo em condições de seca severa



Foto 2.4 – Diaheliotropismo, 24 horas após a reidratação



Foto 2.5 – Diferença de coloração entre as páginas abaxial (esbranquiçada) e adaxial (verde-escuro)



2.3.7 Algumas características estomáticas

Tab. 2.6 Dados relativos ao número de estomas por mm^2 das páginas abaxial (Pag. adax.) e adaxial (Pag. abax.). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre as duas páginas, enquanto as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. para os respectivos parâmetros.

Cv.	Número de estomas por mm^2		
	Pag. abax.	Pag. adax.	Total
57-422	54 ± 1 ^(b,r)	68 ± 2 ^(a,r)	122 ± 1 ^(a,r)
73-30	48 ± 1 ^(b,s)	66 ± 1 ^(a,r)	114 ± 1 ^(a,s)
GC 8-35	32 ± 2 ^(b,t)	41 ± 1 ^(a,s)	73 ± 2 ^(a,t)

As cvs. 57-422 e 73-30 apresentaram um número de estomas muito mais elevado do que a cv. GC 8-35 (Tab. 2.6). Todas as cvs. apresentaram um maior quantidade de estomas na página adaxial.

2.4 DISCUSSÃO

Neste capítulo pretende-se analisar a importância de certos caracteres ontogénicos, morfológicos e anatómicos das cvs., na tentativa de inferir sobre possíveis vantagens e desvantagens de cada um deles para a sobrevivência e produtividade das plantas em condições de seca.

A densidade do grão pode ser um elemento fundamental para o futuro desenvolvimento da planta. Neste aspecto, a cv. 57-422 terá à partida vantagem, na medida em que naquela fase inicial e crucial do desenvolvimento da planta, ela está reduzida a um ser heterotrófico que vive a expensas das reservas contidas no embrião da semente.

A maior produção de vagens das cvs. 57-422 e GC 8-35, relativamente à cv. 73-30, constitui outro atributo com grandes implicações para vida das plantas em si, bem como ao nível da população e da comunidade. Se a germinação for boa e se considerarmos uma vegetação espontânea, o maior número de sementes significa, em primeiro lugar, o nascimento de um maior número de indivíduos de determinado genótipo, o que por sua vez significa uma maior possibilidade de colonização da área pelo genótipo em questão e portanto uma maior capacidade de sobrevivência desta população, em condições normais e em condições de seca. Aliás, este aspecto constitui uma das chaves para o êxito das infestantes, por um lado, e uma das maiores dificuldades para combatê-las por outro.

Os resultados obtidos indicam que numa primeira fase, em condições de boa disponibilidade hídrica, as plantas investiram mais no crescimento radicular do que na parte final do ciclo. Analisando os factos, apenas numa óptica de gestão de água, tal facto significou que apesar de as plantas terem investido nos caules (enquanto estruturas de transporte e armazenamento) e nas folhas (enquanto estruturas de consumo de água) elas não descuraram o investimento nas raízes, estruturas que apesar de não realizarem a fotossíntese são as responsáveis pela absorção de água e sais minerais, o que constitui uma opção importante no âmbito das estratégias da resistência à seca. Importante, porque em primeiro lugar, protege as plantas da desidratação, quer numa altura em que elas são ainda frágeis e com intensa actividade metabólica, quer em fases mais avançadas do desenvolvimento. Por isso é que em termos de práticas culturais, uma ligeira seca na fase inicial do ciclo é mesmo aconselhável para estimular um certo desenvolvimento radicular.

À parte os factos anteriormente abordados, é interessante observar a forma como a parte aérea - caules (estruturas de suporte) e folhas (estruturas assimiladoras) - se

foram desenvolvendo ao longo do ciclo cultural. Numa primeira fase, até aos 40 dias, o investimento é canalizado essencialmente para a folha. As folhas cresceram em número, área, em densidade e duração do tempo em que se mantêm fotossinteticamente activas. Portanto as folhas, teoricamente não só aumentam a sua capacidade para interceptarem a luz e absorverem o CO₂, como também aumentaram a eficiência do processo fotossintético, factos traduzidos na prática pelas elevadas taxas de crescimento (RGR) e produção de matéria seca (TDM), principalmente na cv. 57-422.

O rápido crescimento pode ser importante para a sobrevivência da cultura em condições de seca e tem sido referido como importante critério para a selecção (Simane *et al.* 1993, Ludlow e Muchow 1988). Primeiro, porque ao crescer mais rápido cria um conjunto de condições favoráveis ao melhor aproveitamento dos recursos, como por exemplo, a luz e a água. Depois em termos de aproveitamento da água disponível tem pelo menos duas vantagens. A primeira é que cobrindo o solo evita que alguma água seja evaporada. A segunda reside no facto de abafar o crescimento das infestantes e aqui ganha muito, pois elimina importantes superfícies transpiradoras, concentra para si uma maior fatia de nutrientes, água e luz, capitaliza todas estes factores para um maior produção de matéria vegetal aumentado desta forma as possibilidades de se obter índices de colheita (HI) elevados. Em termos práticos e numa perspectiva de resistência à seca, as plantas com esta característica, como é o caso da cv. 57-422, criam condições para disporem de uma maior quantidade de água para ser gasta através da transpiração, aumentam a possibilidade de a maior parte da água poder ser utilizada fitogenicamente.

No caso concreto de Angola, em que a cultura do amendoim é fundamentalmente de sequeiro, numa altura do ano em que chove com bastante intensidade, as vantagens da cv. 57-422 (resultante do elevado valor de TDM e W_F) são de facto múltiplas a começar pela atenuação do efeito de gota, criando condições para

uma maior infiltração da água, factos que se traduzem numa diminuição da erosão e no armazenamento de uma maior quantidade de água no solo. Nesta altura do ano, as temperaturas são elevadas, o que, associado às disponibilidades hídricas, constitui factor de estímulo para o desenvolvimento e crescimento das infestantes. É evidente que hoje em dia, graças ao desenvolvimento de herbicidas, potentes e selectivos, elas são rápida e facilmente eliminadas pela via química. Esta via para além de ser cara, se não for bem equacionada pode criar problemas sérios de poluição. Genótipos como a cv. 57-422, explorados em sistemas de lavoura mínima com compassos um pouco mais apertados do que o normal ou apenas com uma ligeira protecção química no início do ciclo cultural, são capazes de competir vantajosamente com as infestantes com todos os benefícios que daí advêm. Os ensaios em vaso não permitem de facto analisar todas estas nuances. E assim, como a fotografia 2.2 apresenta apenas um dos aspectos da questão, a cv. 57-422 aparece “penalizada” por ter uma superfície transpirante muito maior que a da cv. 73-30. Portanto há que ter um certo cuidado nas análises, quando temos como base para o diagnóstico apenas os dados obtidos através deste tipo de ensaios.

Na fase final do ciclo, o maior investimento é feito no caule, possivelmente por imposição das necessidades hídricas ou por necessidade de se constituir aí um local para armazenamento de nutrientes e água, os quais podem ser utilizados em situações de crise. Esta foi, na maior parte dos casos, também a fase do decréscimo da LAR e da NAR e por conseguinte da RGR. Apesar disto, a produção de biomassa é ainda considerável, na medida em que, para além de se partir de uma massa vegetal inicial elevada, a LAD aumentou.

Uma das estratégias melhor sucedidas apresentada pelas plantas contra a seca consiste em crescerem, desenvolverem-se e reproduzirem-se antes mesmo da seca se

instalar, isto é, através de um ciclo de vida mais curto. Assim acontece com várias espécies da flora angolana, dentre as quais certas gramíneas como as *Hyparrhenias*, que após as queimadas do cacimbo, no início das chuvas, emergem, crescem, desenvolvem-se, dominando toda a savana durante a longa estação chuvosa, e terminam o seu ciclo de vida antes mesmo de começar o cacimbo. É uma perfeita adequação do ciclo de vida ao meio, é de facto uma arma muito eficiente para se defenderem contra a seca. De acordo com Cruz-de- Carvalho (1998), suscitou alguma surpresa o facto de os camponeses da parte mais a Sul de Angola cultivarem milho em vez do massango e a massambala, consideradas como mais resistentes. Porém, de acordo com o mesmo autor, esta primeira impressão desapareceu, pois as cvs. de milho utilizadas eram precoces.

Em relação a este aspecto, as cvs. GC 8-35 (principalmente esta) e 73-30 têm vantagem sobre a cv. 57-422 pois revelaram-se mais precoces. Como é óbvio esta vantagem não é absoluta, tem muito a ver com a quantidade e distribuição da precipitação, por um lado, e com os sistemas de cultura e a natureza do fruto agrícola por outro. Assim por exemplo, esta estratégia terá, por ventura, pouco significado para o amendoim de sequeiro, das “chuvas grandes”, pois neste caso a água está disponível ao longo do ciclo cultural. Acontece, porém, que podem ocorrer curtos períodos de seca em que a planta terá de desenvolver outras estratégias para melhor se defender. A precocidade já poderá ser importante, por exemplo na agricultura de sequeiro, nas sementeiras das “chuvas pequenas”, se ela for tardia ou se o cacimbo começar mais cedo, correndo-se o risco de as plantas viverem situações de seca na parte final do seu ciclo. Será também importante na agricultura do cacimbo, nas “nakas”, em que as plantas podem correr o risco de viverem situações de seca na parte final do seu ciclo vida.

A aparente desvantagem da 57-422, resultante do facto de ser uma cultivar de

ciclo mais longo, pode ser contornada se esta cv. for utilizada, em esquemas de produção em que o fruto agrícola não sejam as vagens, mas sim a sua parte aérea, como forrageira, por exemplo. Englobada neste esquema de produção, a cv. 57-422, passa a ser a cv. mais precoce com a vantagem de atingir em pouco tempo uma produção significativamente maior de massa verde e eventualmente, com menor consumo de água ou pelo menos com uma maior WUE, como de facto se verificou (ver também Capítulo 4).

As características do mesófilo podem ser também importantes como índices de comportamentos relacionados com a resistência à seca (Cavelier e Goldstein 1987, Konings 1989). A SLA dá-nos informações sobre a área foliar por unidade de P_s . As diferenças genotípicas existem, inclusive dentro de uma mesma espécie (Dornhoff e Shibley 1974, Paul *et al.* 1988, Buttery *et al.* 1993) e por estes factos, muita atenção se tem prestado à análise das correlações entre a densidade do mesófilo, fotossíntese e WUE. Geralmente a SLA está negativamente correlacionado com P_n , produção de biomassa e WUE (Buttery *et al.* 1993, Write *et al.* 1993, van Arendonk e Poorter 1994).

É normal encontrar nas xerófitas, mesófilos mais densos e uma maior densidade estomática (Urquiza *et al.* 1993). Se a maior densidade do mesófilo se fizer à custa do parênquima lacunoso e da massa de cloroplastos, então as cvs. 57-422 e 73-30 terão, por ventura, um maior potencial fotossintético que a cv. GC 8-35. Poderá haver também um aumento da WUE como é sugerido por alguns autores (Wright *et al.* 1993, van Arendonk e Poorter 1994), devido a uma barreira adicional às trocas gasosas entre as plantas e a atmosfera envolvente, resultante da redução dos espaços intercelulares. Acontece também, como disto nos dá conta van Arendonk e Poorter (1994), que o espessamento da folha pode ser o resultado da acumulação, na parede celular, de substâncias de diferente natureza química ou também do aumento do parênquima em

paliçada. Nestes casos, as vantagens e as indicações que a SLA nos pode fornecer relacionam-se, não com um aumento das potencialidades fotossintéticas, mas sim com uma maior capacidade de as plantas reduzirem a transpiração. Compreende-se portanto que a menor SLA da cv. 73-30 relativamente à cv. GC 8-35 não tenha significado, nem um maior potencial fotossintético, nem uma maior produção (tanto ao nível de P_n como ao nível da produção de vagens). Reflectiu-se sim, numa menor taxa transpiratória e numa maior WUE. Entre as cvs. estudadas, a 57-422 é bem o exemplo do que foi acima referido, relativamente às relações da SLA com P_n , produção de biomassa e WUE.

Tendo apenas em conta o número de estomas, de acordo com os resultados obtidos, poder-se-ia esperar a ocorrência de elevadas taxas transpiratórias e fotossintéticas nas cvs. 57-422 e 73-30. Tal facto, do qual também fazem referência Dornhoff e Shibles (1976) e Buttery *et al.* (1993), apenas se verificou na cv. 57-422, em que as maiores densidades estomáticas estão positivamente bem relacionadas com altos valores de g_s , T_r e de P_n . Acontece, porém, como tem sido amplamente referido (McCree 1974, Jones 1977, Fitter e Hay 1989), que estas relações não são assim tão lineares. Com efeito, segundo Wong *et al.* (1979) e Nátr e Pazourek (1986) a frequência estomática é apenas um dos muitos factores envolvidos nas trocas gasosas das plantas, para além de que sendo a abertura estomática regulada por complexos mecanismos, é difícil estabelecer relações lineares entre elas. Para além do número de estomas, há que ter também em linha de conta outros aspectos, como sejam o tamanho da abertura estomática (McCree e Davis 1974, Fitter e Hay 1989), a natureza da câmara subestomática (Laisk 1983, Urquiza *et al.* 1988) e o facto de que, com elevadas frequências estomáticas, ao contrário do que se verifica quando os estomas se apresentam mais dispersos, se poder criar uma camada húmida contínua à superfície da folha o que diminui o déficite de pressão de vapor entre a atmosfera e a folha, resultando

daí um decréscimo da transpiração (Bacall e Torres 1981, Urquiza *et al.* 1988). Os argumentos antes expostos, possivelmente ajudam a compreender um facto que é aliás referido por outros autores em outras espécies (Fitter e Hay 1989, Jones 1992, Mirales e Garalet 1993), e que também se verificou neste trabalho e com todas as cvs.; a ocorrência de um maior número de estomas na página adaxial do que na página abaxial.

Em Angola, o amendoim é cultivado na época chuvosa, altura do ano em que podem coincidir, condições de intensidade luminosa e temperatura elevadas com condições de escassez de água. Mesmo, quando não há escassez de água, a forte insolação deste período, principalmente nas horas mais quentes do dia, encontra nas plantas de folhagem esclerófita, devido à sua imobilidade e rigidez, que as impedem de recorrer a mecanismos de defesa do tipo “avoidance”, um alvo extremamente exposto. No amendoim, pelo menos nas cvs. aqui estudadas, como as fotografias o documentam, não é assim. Estas plantas, assim como outras da sua família e não só (Wainwright 1977, Shackel e Hall 1979, Ehleringer e Forseth 1980, Ludlow e Björkman 1988), são caracterizadas por apresentarem heliotropismo; diaheliotropismo nas horas de menor intensidade luminosa e/ou na ausência de condições de seca e paraheliotropismo no caso contrário. No caso da seca, elas conseguem, através do diaheliotropismo, interceptar uma maior quantidade de luz e criar condições para maximizar a fotossíntese quando as condições hídricas são favoráveis e no caso contrário, via paraheliotropismo, minimizar tal intercepção evitando ou atenuando os fenómenos de desidratação, fotoinibição e sobreaquecimento da folha, complementando desta forma a acção dos estomas.

Como resultado do heliotropismo verificado nas cvs. estudadas, a página abaxial é muito mais exposta à acção dos raios solares. Como se pode ver na fotografia, estas cvs. apresentam uma certa diferença na coloração das duas páginas, sendo a página abaxial esbranquiçada e a adaxial de um verde escuro, o que lhe permite reflectir uma

maior quantidade de radiação, evitando um aquecimento em excesso, quando as condições são desfavoráveis para a sua utilização fotossintética. Este é de facto um excelente mecanismo de defesa como o sublinham Matthews *et al.* (1983) e Ludlow e Muchow (1988). Adicionalmente, há que referir a reversibilidade destes processos, os quais, uma vez ultrapassadas as condições adversas, permitem à planta o normal desempenho da actividade fotossintética, ao contrário da redução do crescimento e da senescência foliar. Por outro lado, tem vantagem sobre a esclerofilia, que é mais dispendiosa para além de que, em condições favoráveis, poder dificultar a penetração da luz solar.

2.5 CONCLUSÕES

De uma forma geral, as plantas adoptaram, como estratégia de, numa primeira fase, privilegiar o crescimento das raízes e folhas. Daí, as variações, entretanto observadas, das razões raiz/parte aérea e folhas/caules ao longo do ciclo cultural. De salientar ainda que a cv. 57-422 apresentou os mais densos grãos, as maiores produções de biomassa radicular, caulinar, foliar e total, assim como também as maiores produções unitárias de vagens. Em termos fenológicos, as cvs. GC 8-35 (principalmente esta) e 73-30 revelaram-se mais precoces que a 57-422.

Os valores mais baixos da SLA foram observados nas cvs. 57-422 e 73-30. A menor SLA da cv. 73-30, relativamente à cv. GC 8-35, não significou, nem um maior potencial fotossintético, nem uma maior produção; quer mesmo ao nível de P_n , da matéria seca acumulada, assim como quer ao nível da produção de vagens. Reflectiu-se sim, numa menor taxa transpiratória e numa maior WUE. Entre as cvs. estudadas, a 57-422 é bem o exemplo da ocorrência de correlações negativas entre SLA e os parâmetros: P_n , produção de biomassa e WUE.

Em todas as cvs., os estomas estão, em maior quantidade, na página adaxial (a que fica mais protegida dos raios solares nos períodos de “stress” luminoso e hídrico e de coloração mais escura) do que na página abaxial, a de cor esbranquiçada e a mais exposta aos raios solares nos já referidos períodos de “stress”. Nem sempre a maior densidade estomática correspondeu a uma maior taxa transpiratória. A cv. 73-30 conjuga mesófilos densos com elevado número de estomas e baixas taxas transpiratórias.

2.6 BIBLIOGRAFIA

- Annerose D.J.M. 1990. Recherches sur les mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse. Application au cas de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivée au Sénégal. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles. pp. 282. Université Paris VII, Paris, France.
- Bacall E.V. & García S.T. 1981. Fisiología Vegetal. Editorial Pueblo y Education. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Buttery B.R., Tan C.S., Buzzell R.I., Gaynor J.D. & MacTAVISH D.C. 1993. Stomatal numbers of soybean and response to water stress. *Plant and Soil* 149: 283-288.
- Cavelier J. & Goldstein G. 1987. Leaf anatomy and water relations in tropical elfin cloud forest tree species. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Krub, H. Ritcher e T.M. Hinckley, eds.), pp. 243-253. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), Germany.
- Cruz-de-Carvalho E. 1998. A racionalidade dos sistemas agro-pecuários tradicionais angolanos. Seminário “A agricultura em África: um olhar retrospectivo”. Liga dos

Estudantes Africanos da Universidade de Évora, Évora, Portugal.

Dornhoff G.M. & Shibles R. 1976. Leaf morphology and anatomy in relation to CO₂-exchange rate of soybean leaves. *Crop Sci.* 16: 377-431.

Ehleringer J. & Forseth I. 1980. Solar tracking by plants. *Science* 210: 1094-1098.

Fitter A.H. & Hay R.K.M. 1989. Environmental physiology of plants. Second edition. Academic Press, London, England.

Hodgson J.G., Booth R.E. & Gaitens P. 1993. Functional plant anatomy. *In Methods in Comparative Plant Ecology. A Laboratory Manual* (G.A.F. Hendry e J.P. Grime, eds.), pp. 32-36. Chapman & Hall, London, England.

Hoagland D.R. & Snyder W.C. 1933. Nutrition of strawberry plant under controlled conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort Sci.* 30: 288.

Hudak C.M. & Patterson R.P. 1995. Vegetative growth analysis of a drought-resistant soybean plant introduction. *Crop Sci.* 35: 467-471.

Jones H.G. 1977. Transpiration in barley lines with differing stomatal frequencies. *J. Exp. Bot.* 26: 162-168.

Jones H.G. 1992. Plant and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology. Pp. 264-293. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge, England.

- Laisk A. 1983. Calculation of photosynthetic leaf parameters considering the statistical distribution of stomatal apertures. *J. Exp. Bot.* 34: 162-168.
- Ludlow M.M., Björkman 1984. Paraheliotropic leaf movement in *Sirato* as a protective mechanism against drought-induced damage to primary photosynthetic reactions: damage by excessive light and heat. *Planta* 161: 505-518.
- Ludlow M.M. & Muchow C.C. 1988. Critical evaluation of the possibilities for modifying crops for high production per unit of precipitation. In *Drought Research Priorities for the Dryland Tropics* (F.R. Bidinger e C. Johansen, eds.), pp. 179-210. ICRISAT, Patancheru, India.
- Kaoru M. & Rayan A. 1990. Anatomy: a key factor regulating plant tissue response to water stress. In *Environmental Injury to Plants* (Katernian, ed.), pp. 63-87. Academic Press, London, England.
- Konings H. 1989. Physiological and morphological differences between plants with a high NAR or a high LAR as related to environmental conditions. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of higher Plants* (H. Lambers, M.L. Cambridge, H. Konings e T.L. Pons, eds.), pp.101-123. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.
- Kvet J., Ondok, J.P., Necas J. & Jarvis P.G. 1971. Methods of growth analysis. In *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods* (Z. Sesták, J. Catský e P.G. Jarvis P.G., eds.), pp. 343-391. Dr. W. Junk Publ., The Hague.

- Matos M.C., Nunes M.A. & Dias J. 1983. A oportunidade da rega. Estudos sobre índices fisiológicos. Estação Nacional de Fruticultura Vieira da Natividade e Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola, Alcobaça, Portugal.
- Matthews R.B., Harris D., Williams J.H. & Nageswara R.C. 1983. The physiological basis for yield differences between four genotypes of groundnut (*Arachis hypogaea*) in response to drought. II Solar radiation interception and leaf movement. *Expl. Agric.* 24: 203-213.
- Miralles B.O., Garaulet I.C. 1993. El agua en la planta. In *Agronomía del Riego* (F.M.S. Mañas e J.A. de Juan Valero, eds.), pp. 75-107. Ediciones Mundi-Prensa, Universidade de Castilla - la Mancha, Castello, Espana.
- McCree K.J. 1974. Changes in the stomatal response characteristics of grain sorghum produced by water stress during growth. *Crop Sci.* 14: 273-278.
- McCree K.J. & Davis 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.
- Nátr L. & Pazourek J. 1986. Genotypic differences and heterogeneity in the stomatal frequency of barley leaves. *Photosynthetica* 20: 363-370.
- Paul N.K. & Eagles C.F. 1988. Cultivar differences in net photosynthetic rates and their relationship with leaf anatomical characteristics in *Brassica*. *Photosynthetica* 22: 320-327.

Shackel K.A. & Hall A.E. 1979. Reversible leaflet movements in relation to drought adaptation of cowpeas, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Aust. J. Plant Physiol.* 6: 265-267.

Simane B., Peacock J.M. & Struik P.C. 1993. Differences in developmental plasticity and growth rate among drought-resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Plant and Soil* 157: 155-166.

Urguiza R.A., Delgado E.O. & García R.R. 1988. Fisiología Vegetal. Editorial Pueblo y Education, Ciudad de La Habana, Cuba.

van Arendonk J.J.C.M. & Pooter H. 1994. The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. *Plant Cell Environm.* 17: 963-970.

Wainwright C.M. 1977. Sun-tracking and related leaf movements in a desert lupine (*Lupinus arizonicus*). *Amer. J. Bot.* 64: 1032-1041.

Wong S.C, Cowan I.R. & Farquhar G.D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthesis capacity. *Nature* 282: 424-425.

Wright G.C., Hubick K.T., Farquhar G.D. & Nageswara Rao R.C. 1993. Genetic and environmental variation in transpiration efficiency and its correlation with carbone isotope discrimination and specific leaf area in peanut. *In Stable Isotopes and Plant Carbon-Water Relations* (J.R. Ehleringer, A.E.Hall & G.D.Farquhar, eds.), pp. 247-267. Academic Press, San Diego, USA.

CAPÍTULO 3

RELAÇÕES HÍDRICAS E ACUMULAÇÃO DE SOLUTOS EM PLANTAS SUBMETIDAS A CONDIÇÕES DE “STRESS” HÍDRICO

3.1 INTRODUÇÃO

A identificação dos atributos que permitem às plantas resistirem ao “stress” hídrico constitui, por um lado, um dos passos fundamentais para lutar contra este constrangimento ambiental e, por outro lado, serve de base a programas de melhoramento.

Os estudos baseados na análise conjunta da variação do estado hídrico das plantas e das trocas gasosas, nomeadamente a condutância estomática e a transpiração em condições de seca permitem obter informações sobre a capacidade das plantas conservarem a água ao seu dispor. A velocidade com que as plantas se desidratam pode ser decisiva para a sua sobrevivência em condições de seca, sendo, por isso mesmo, utilizada como importante critério para a selecção em relação à resistência à seca (Nunes 1967, McCree e Fernandez 1989), já que permite às mesmas manterem por mais ou por menos tempo os processos fisiológicos e activar ou não processos de aclimação

ao “stress” hídrico.

As curvas que relacionam o teor hídrico relativo com o potencial hídrico permitem-nos obter informações sobre o grau de “drought tolerance” e “drought avoidance” das plantas. De acordo com vários autores (Sanchez-Dias e Kramer 1971, Jones *et al.* 1981, Ritcher e Kikuta 1989, Turner e Henson 1989), as plantas que resistem à seca com baixos potenciais hídricos e com paredes rígidas apresentam desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “tolerance”, enquanto que as plantas que resistem à seca com altos potenciais hídricos e possuem paredes elásticas apresentam desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “avoidance”.

A acumulação activa de solutos em condições de seca que permite um ajuste osmótico, encontra-se amplamente distribuída no reino vegetal (Ludlow *et al.* 1983, Kennet *et al.* 1983, Rodrigues *et al.* 1993, Allen e Zaplachinski 1994, Raggi 1994, Wang *et al.* 1995). Apesar de existir ainda muita controvérsia relativamente às funções específicas dos solutos compatíveis (Paleg *et al.* 1981, Santos-Díaz e Ochoa-Alejo 1994, Jouve *et al.* 1993, 1994, Pérez-Alfocea e Larher 1995) a sua natureza, apesar de variada, está, relativamente bem esclarecida (Jones *et al.* 1980, Ford e Wilson 1981, Munns e Weir 1981, Morgan 1984), sendo referidos com muita frequência, os açúcares solúveis (Jones *et al.* 1980, Muns e Weir 1981, Wang *et al.* 1995) e a prolina (Good e Zaplaciniski 1994, Ober e Sharp 1994, Pérez-Alfocea e Larher 1995).

As diferenças genóticas em relação aos factores antes mencionados definem diferentes capacidades de gerir a água e, no fundo, diferentes estratégias de luta contra a seca. Assim neste capítulo pretende-se caracterizar as cvs. em estudo, em termos da natureza das suas relações hídricas e da acumulação de solutos em condições de seca. Estas respostas poderão servir para uma melhor compreensão das manifestações mais ou menos tardia das alterações metabólicas normalmente associadas à seca, as quais

serão objecto de estudo dos próximos capítulos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Germinação, determinação da capacidade de vaso e condições gerais de crescimento

Procedeu-se conforme o descrito no capítulo anterior. Apenas mais um facto: o fornecimento da solução nutritiva foi feito nas mesmas quantidades e frequência, tanto às plantas regadas, tratamento C, como às plantas submetidas a seca, tratamentos S1 (seca moderada) e S2 (seca severa).

3.2.2 Imposição do “stress” hídrico e determinação da transpiração

As plantas foram regadas sempre que necessário, para que se mantivessem em boas condições hídricas, isto é, próximo de 90% da “CC”, até ao momento em que a seca foi imposta, por suspensão da rega. A determinação da taxa de transpiração (T_r) foi feita pelo método gravimétrico, pesando o conjunto vaso-substrato-plantas. Para subtrair a evaporação, os vasos foram cobertos com uma camada de perlite acima do substrato. Não sendo no entanto este material completamente impermeável, prepararam-se dois conjuntos de vasos apenas com perlite (isto é sem plantas); um que foi sujeito ao tratamento de rega idêntico ao das plantas testemunha e outro com o tratamento das plantas sob "stress". A T_r foi então calculada com maior rigor, pela diferença entre o peso dos vasos com plantas protegidos com perlite e o dos vasos apenas com perlite. A quantidade de água transpirada foi dividida pela área foliar, sendo então a T_r expressa em $\text{g cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$. A transpiração acumulada diz respeito ao total de água transpirada no final do ciclo de desidratação. A percentagem de água transpirada em dado intervalo de tempo representa, portanto, uma fracção da transpiração acumulada.

3.2.3 Medição da condutância estomática por porometria difusiva e do déficit de pressão de vapor

A condutância estomática foi medida na 3ª folha contada a partir do ápice, utilizando para o efeito um porómetro de difusão (Delta-TK2). Este porómetro mede o tempo necessário para levar a câmara porométrica em contacto com a superfície transpirante de área conhecida, de C_a a C_b , sendo C_a uma concentração de vapor de água inicial e C_b uma concentração final, ambas pré-fixadas. Um fluxo de ar desidratado por sílica recoloca a concentração em C_a e recomeça outro ciclo de medição. Os valores obtidos foram depois transformados em valores de resistência foliar à difusão do vapor de água (r_s) a partir de uma recta de calibração elaborada através da medição da evaporação de superfícies de resistências conhecidas. A condutância estomática foi obtida através da determinação do inverso de r_s . O déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar (Δ_e), expresso em mbars bar^{-1} , foi determinado utilizando os valores da humidade relativa e das temperaturas do ar (T_{ar}) e da folha (T_f), medidas com o próprio porómetro.

3.2.4 Determinação do teor hídrico relativo, área foliar específica e do potencial hídrico foliar e seus componentes

O teor hídrico relativo (RWC) foi determinado de acordo com Catský (1960), utilizando para o efeito a seguinte fórmula: $\text{RWC} = (P_f - P_s)/(P_t - P_s) \times 100$; em que P_f é o peso fresco de 10 discos foliares de $0,5 \text{ cm}^2$ cada (determinado imediatamente após os discos serem retirados do limbo dos folíolos com auxílio de um furador), P_t , o peso túrgido dos mesmos (determinado após terem permanecido durante a noite em alvéolos de uma esponja perfurada e saturada com água destilada, em condições próximas do ponto de compensação para a luz e à temperatura ambiente) e P_s , o peso seco

(determinado após os discos foliares terem permanecido numa estufa a 80 °C, durante 48 horas). A área foliar específica (SLA) foi determinada pela razão entre a área dos discos e o peso seco correspondente, sendo portanto expressa em unidades de área por unidade de peso ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$).

O potencial hídrico foliar (ψ_w) foi medido na 3ª folha, utilizando para o efeito a câmara de pressão de acordo com o método de Scholander *et al.* (1965). O pecíolo foi cortado e imediatamente submetido a uma pressurização crescente e gradual. Em consequência da mesma, o suco xilémico aflorou à superfície do corte. Neste momento, leu-se o valor da pressão que foi preciso aplicar à folha destacada para repor a água na extremidade do pecíolo, a qual é igual ao valor do ψ_w , já que corresponde (mas tem sinal negativo) à pressão negativa a que a água no xilema estava sujeita antes do corte.

O potencial osmótico (ψ_s) foi determinado num psicrómetro de ponto de orvalho (HR-33 T, Wescor Inc., USA). As amostras, constituídas cada uma por 3 discos foliares de $0,5 \text{ cm}^2$, foram esmagadas e rapidamente colocadas na câmara G-25 (Wescor) do psicrómetro. Utilizou-se um período de equilíbrio de 20 min e de arrefecimento da junção de 10 s. A leitura foi feita no 1º valor estável observado no microvóltmetro e o zero acertado entre cada amostra. Os valores lidos (microvolts) foram posteriormente convertidos em unidades de pressão, utilizando uma regressão linear previamente estabelecida com soluções de NaCl. O potencial de pressão (ψ_p) relaciona-se com o (ψ_w) e o (ψ_s) através da equação: $\psi_w = \psi_s + \psi_p$

3.2.5 Determinação do teor hídrico relativo correspondente ao fecho dos estomas pelo método de Hygen

Os vasos contendo as plantas foram regados abundantemente, na véspera, sendo depois envoltos numa atmosfera saturante de vapor de água e nessas condições

passaram a noite. Na manhã seguinte, o conjunto vaso-planta foi posto à luz solar durante aproximadamente meia hora. Passado esse período de tempo, destacaram-se os folíolos das plantas e procedeu-se de imediato à sua pesagem para a determinação do P_i . A partir daqui, amostras de 5 folíolos de cada planta foram sujeitos a uma desidratação progressiva na bancada, sendo pesados (estas determinações correspondem ao P_f ou actual), primeiro de 5 em 5 min., depois de 10 em 10 e depois de 20 em 20 min. durante 2 horas. Depois de os folíolos terem permanecidos numa estufa a 80 °C, durante 48 horas, determinou-se o P_s dos mesmos, sendo o RWC calculado pela fórmula mencionada no ponto 3.2.4.

A partir dos dados obtidos elaborou-se, para cada amostra de folíolos, uma curva que relaciona o RWC com o tempo de desidratação. A taxa de transpiração relativa total (TTRT) foi calculada pela fórmula: $TTRT = (\log RWC_2 - \log RWC_1) / (t_2 - t_1)$, em que RWC_2 e RWC_1 representam o valor deste parâmetro no início e no fim do ensaio. O declive da fase inicial da recta (paralela ao eixo dos Y) dá-nos o valor da taxa de transpiração relativa estomática (TTRS), enquanto que o declive da parte final da curva (paralela ao eixo dos X) dá-nos o valor da taxa de transpiração relativa cuticular (TTRC). As percentagens da transpiração estomática (%TS) e cuticular (%TC) foram calculadas como percentagem de TTRT. O valor do RWC correspondente à intersecção das duas rectas é o valor deste parâmetro no encerramento estomático (RWC_s).

3.2.6 Determinação do teor de açúcares solúveis

A determinação dos açúcares solúveis foi feita de acordo com o método de Ashwell (1957). Amostras constituídas por 3 discos foliares de 0,5 cm² cada, foram inicialmente maceradas em 1 ml de etanol a 96%. A maceração prosseguiu adicionando mais 5 ml de etanol a 80%. O homogenato resultante foi recolhido, em tubos de vidro e

aquecido num banho maria de temperatura controlada (70 °C) e com agitação durante 30 min e finalmente arrefecido. Foi então submetido a uma série de 3 centrifugações (12000 x g, 15 min.), tendo-se em cada uma delas recolhido o sobrenadante resultante. Do seu total, retirou-se, para um tubo de ensaio, uma alíquota de 1 ml, à qual foram adicionados 2 ml de uma solução de antrona previamente preparada (2g de antrona para 1l de H₂SO₄). Esta última operação foi realizada com os tubos de ensaio colocados num banho de gelo fundente. Seguidamente, os tubos de ensaio foram agitados num vortex, aquecidos num banho de água a ferver durante 10 min. e finalmente arrefecidos bruscamente, mergulhando-os em gelo. A concentração de açúcares solúveis na amostra ($\mu\text{g ml}^{-1}$) foi determinada espectrofotometricamente, através da absorvância da amostra a 640 nm e utilizando a equação de uma recta padrão, previamente elaborada, com soluções de glucose. As análises do material radicular foram efectuadas da mesma forma, usando 2 g (peso fresco) da raiz.

3.2.7 Determinação do teor de prolina

A determinação do teor de prolina foi feita de acordo com o método de Bates (1973); prepararam-se previamente, as soluções de ácido fosfórico (6 M) e a de ninidrina (diluição de 400 mg desta substância em 10 ml de ácido glacial acético, numa hote e utilizando um agitador com aquecimento). Depois, foram macerados 3 discos de 0,5 cm² cada um em 5 ml de metanol. Do homogenato resultante, foi retirada para um tubo de ensaio, uma alíquota de 1 ml, à qual se adicionou 1 ml da solução de ninidrina e 0,5 ml da solução de ácido fosfórico. Seguidamente, os tubos foram colocados em água a ferver durante 45 min (tendo-se tido o cuidado de os tapar com berlindes para evitar que o ácido saltasse), após o que foram deixados a arrefecer. Só então foi feita a extracção, adicionando a cada tubo de ensaio 5 ml de tolueno. A determinação da

concentração de prolina na amostra foi feita espectrofotometricamente, fazendo-se a leitura a 515 nm e efectuando-se os cálculos (expressos em $\mu\text{mol ml}^{-1}$) de forma semelhante aos açúcares solúveis, após a elaboração da curva padrão com diversas soluções de prolina.

3.2.8 Determinação do teor de clorofilas

As clorofilas foram determinadas de acordo com o método de Lichtenthaler (1987), ligeiramente modificado. Amostras de 3 discos foliares de $0,5 \text{ cm}^2$ foram esmagadas em 10 ml de metanol a 90%. O sobrenadante foi recolhido em tubos de ensaio e depois centrifugado. Seguidamente leram-se as absorvâncias a comprimentos de onda de 665,2 e 652,4 nm. O teor de clorofilas foi calculado a partir das fórmulas propostas por este autor.

3.2.9 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados, aplicou-se, aos parâmetros estudados, uma análise de variância (ANOVA) com dois factores com um nível de confiança de 95%. Baseado nos resultados da ANOVA, utilizou-se o teste de Tukey para a comparação das médias entre os genótipos (r, s, t) ou nível de desidratação (a, b, c).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Relação entre a capacidade de vaso e o teor hídrico relativo ao longo do ciclo de seca

Em relação a este aspecto, verificou-se, em todas as cvs., que, na primeira fase da curva (até c.a 60% da "CC"), o RWC não foi alterado. Depois, as cvs., 57-422 e GC 8-35, mostraram acentuados decréscimos no RWC (Fig. 3.1), enquanto que na cv. 73-

30,

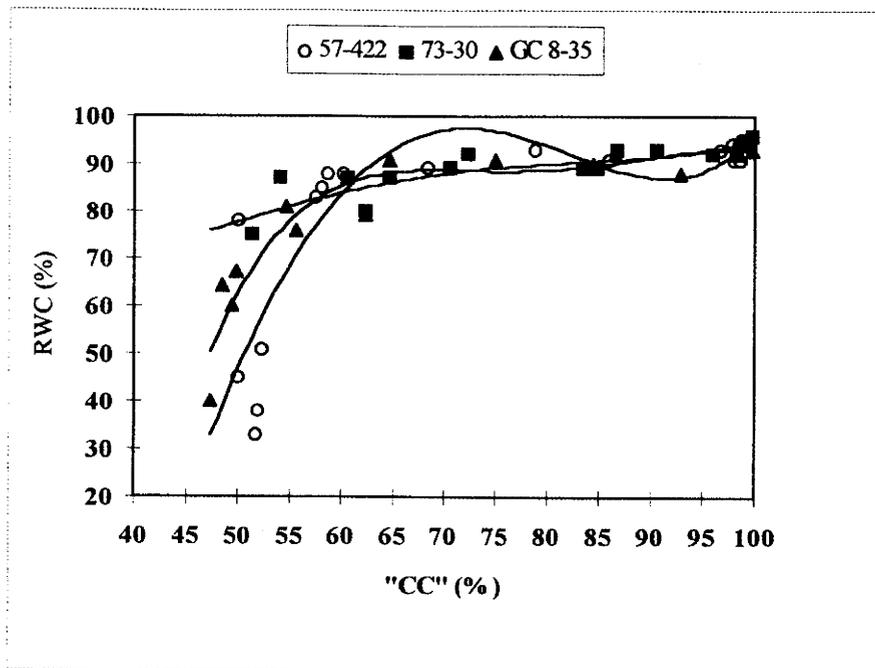


Fig. 3.1 Relação entre o teor hídrico relativo foliar (RWC) e a percentagem da capacidade de vaso ("CC"). Cada ponto representa um valor individual.

o RWC foi pouco alterado (Fig. 3.1). De facto, no final do período de desidratação, os maiores valores do RWC foram observados na cv. 73-30 (Tab. 3.1).

3.3.2 Variação do consumo de água ao longo do ciclo de seca

Os resultados mostraram que em condições de boa disponibilidade hídrica a g_s total foi superior nas cvs. 57-422 e CG-8-35 (Tab. 3.1). Observou-se, 8 dias após a suspensão da rega, uma queda mais acentuada deste parâmetro nas cvs. 57-422 e CG-8-35. Em termos de transpiração, verificou-se (Tab. 3.1) que a cv 57-422 é a que apresenta no fim do ciclo de seca uma maior taxa acumulada de T_r , seguindo-se-lhe as cvs. CG-835 e a 73-30. A cv. 57-422 tem no início, até ao 3º dia de seca, uma taxa acumulada de T_r que representa 61% do total, enquanto que ela representa 50% e apenas 37%, respectivamente nas cvs. GC 8-35 e 73-30. Contudo, verificou-se também que as maiores taxas transpiratórias aconteceram na parte final do período de seca (cvs. 73-30 e

Tab. 3.1 Efeitos da seca sobre o teor hídrico relativo (RWC, %), condutância (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), temperatura foliar (T_f , °C), transpiração (T_r , $\text{g cm}^{-2} \text{dia}^{-1}$) e o deficit de pressão de vapor entre a folha e o ar (Δ_e , mbars bar^{-1}). Os valores representam a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

		Dia após a suspensão da rega		
Cv.		2	3	8
57-422	RWC	92 \pm 0,5 ^(a,s)	91 \pm 1,2 ^(b,r)	50 \pm 5,2 ^(c,s)
	$g_{s\text{abax}}$	142 \pm 4,5 ^(a,r)	131 \pm 9,2 ^(a,r)	0,9 \pm 0,0 ^(c;t)
	$g_{s\text{adax}}$	111 \pm 4,2 ^(a,s)	79 \pm 5,9 ^(b;s)	2,0 \pm 0,4 ^(c;t)
	$g_{s\text{Total}}$	253 \pm 8,3 ^(a;s)	209 \pm 15,1 ^(b;r)	2,8 \pm 0,6 ^(c;t)
	T_f	23,5 \pm 0,3 ^(a;s)	26 \pm 0,5 ^(a,r)	33,4 \pm 0,9 ^(b;r)
	T_r	0,249 \pm 0,02 ^(a,r)	0,343 \pm 0,04 ^(b;r)	0,374 \pm 0,01 ^(b;t)
	Δ_e	5,2 \pm 0,8 ^(c;r)	10,4 \pm 0,5 ^(b;r)	18,3 \pm 0,7 ^(a;s)
73-30	RWC	95 \pm 0,3 ^(a,r)	92 \pm 1,54 ^(a,r)	65 \pm 0,7 ^(b;r)
	$g_{s\text{abax}}$	113 \pm 9,36 ^(a;s)	91 \pm 9,3 ^(a;s)	20 \pm 4,6 ^(c;r)
	$g_{s\text{adax}}$	100 \pm 11,2 ^(a,s)	73 \pm 12,1 ^(b;s)	37 \pm 6,7 ^(c;r)
	$g_{s\text{Total}}$	213 \pm 20,9 ^(a;t)	164 \pm 21,3 ^(b;s)	57 \pm 10,9 ^(c;r)
	T_f	25,2 \pm 0,2 ^(b;r)	25,6 \pm 0,8 ^(b;r)	33,7 \pm 0,2 ^(a,r)
	T_r	0,146 \pm 0,01 ^(c;s)	0,177 \pm 0,02 ^(b;t)	0,557 \pm 0,07 ^(a,r)
	Δ_e	5,2 \pm 0,2 ^(c;r)	12,7 \pm 0,8 ^(b;r)	19,5 \pm 0,2 ^(c;s)
GC 8-35	RWC	92 \pm 1,2 ^(a;s)	91 \pm 0,6 ^(a,r)	54 \pm 4,6 ^(b;s)
	$g_{s\text{abax}}$	155 \pm 10,7 ^(a,r)	104 \pm 5,2 ^(b;s)	1,5 \pm 0,1 ^(c;s)
	$g_{s\text{adax}}$	138 \pm 2,8 ^(a,r)	109 \pm 8,6 ^(b;r)	7,5 \pm 0,4 ^(c;s)
	$g_{s\text{Total}}$	293 \pm 8,2 ^(a,r)	213 \pm 8,4 ^(b;r)	9 \pm 0,7 ^(c;s)
	T_f	22,7 \pm 0,1 ^(c;s)	26 \pm 1,1 ^(b;r)	33,5 \pm 0,2 ^(a,r)
	T_r	0,243 \pm 0,01 ^(b;r)	0,227 \pm 0,03 ^(c;s)	0,465 \pm 0,0 ^(a;s)
	Δ_e	4,3 \pm 0,3 ^(c;s)	10,9 \pm 1,1 ^(b;r)	22,2 \pm 0,3 ^(a,r)

GC 8-35) coincidindo com os maiores valores de T_f e do Δ_e e os mais baixos valores da g_s total (Tab. 3.1).

3.3.3 Variação da condutância estomática das duas páginas e da temperatura foliar ao longo do ciclo de seca

Em relação ao comportamento estomático das duas páginas (Tab. 3.1), verificou-se que a diferença entre a g_s da página abaxial ($g_{sabax.}$) e a da página adaxial ($g_{sadox.}$), se foi esbatendo à medida que a seca se ia acentuando, chegando mesmo a inverter-se. A $g_{sabax.}$ decresceu mais relativamente à $g_{sadox.}$. Relativamente ao efeito da seca sobre a T_f (Tab. 4.1), verificou-se que esta aumentou, à medida que o RWC decresceu. No início, a cv. 73-30 apresentou valores mais elevados.

3.3.4 Atributos ligados à conservação da água

Tab. 3.2 Principais atributos ligados à conservação da água, obtidos pelo teste de Hygen, nomeadamente o teor hídrico relativo no encerramento estomático (RWC_s , %), tempo requerido para o encerramento estomático (T_s , min.), taxa de transpiração relativa total/h (TTRT), taxa de transpiração relativa estomática/h (TTRS), taxa de transpiração relativa cuticular/h (TTRC), percentagem da transpiração estomática (%TS) e percentagem da transpiração cuticular (%TC). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). $TTRT = (\log RWC_2 - \log RWC_1) / t_2 - t_1$.

Cv.	RWC_s	T_s (min.)	TTRT (h)	TTRS (h)	TTRC (h)	%TS	%TC
73-30	71	21,8	0,63	0,35	0,28	56	44
GC 8-35	30	42,7	0,98	0,80	0,19	81	19

A cv. 73-30 encerrou os estomas a um RWC mais elevado do que a cv. GC 8-35 (Tab. 3.2). Por outro lado, transpirou menos, levou menos tempo para encerrar os estomas e apresentou uma menor %TS (Tab. 3.2). Apresentou, no entanto, valores mais elevados de TTRC e de %TC (Tab. 3.2).

3.3.5 Relação entre o teor hídrico relativo, o potencial hídrico foliar e seus componentes

A Fig. 3.2 refere-se às curvas que relacionam o RWC com o Ψ_w . Como se pode observar, as cvs. apresentaram diferenças em relação ao declive da curva, o qual foi

menor nas cvs. 57-422 e GC 8-35. Outra diferença a reter foi o facto de a cv. 73-30 ter apresentado nos diferentes níveis de desidratação os mais elevados valores de Ψ_w .

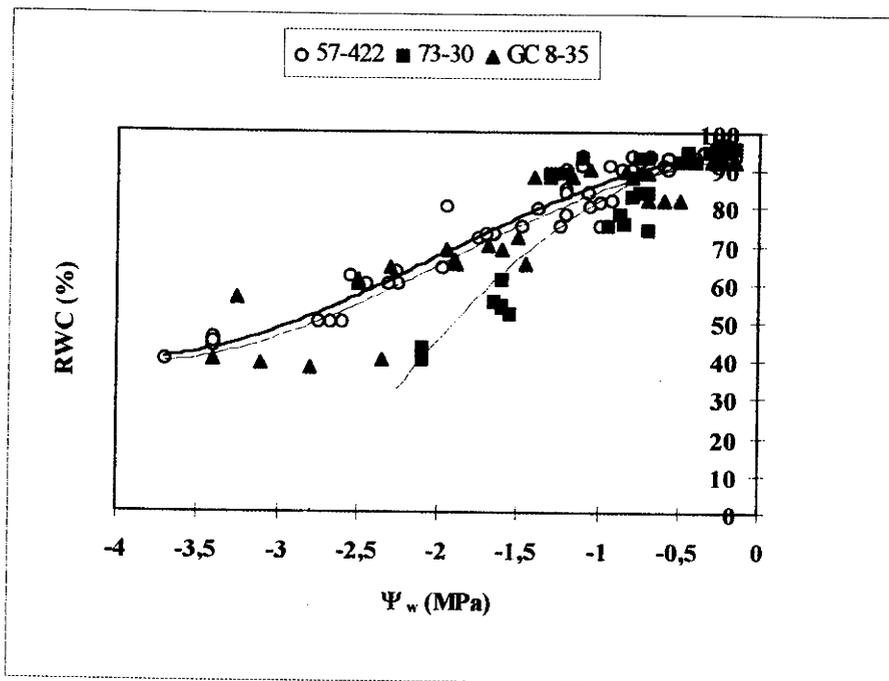


Fig. 3.2 Relação entre o teor hídrico relativo (RWC) e o potencial hídrico foliares (Ψ_w). Cada ponto representa um valor individual.

Quanto à relação entre o RWC e o Ψ_s , verificou-se a queda deste último à

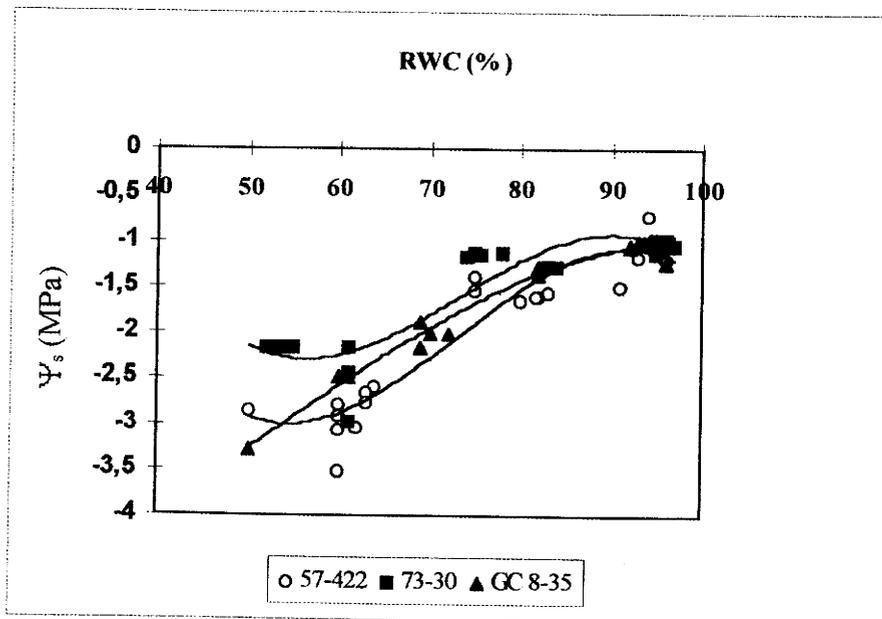


Fig. 3.3 Relação entre o potencial osmótico (Ψ_s) e o teor hídrico relativo foliares (RWC). Cada ponto representa um valor individual.

medida que o nível de desidratação aumentou (Fig. 3.3). Como seria de esperar, em função do que foi observado no ponto anterior, a queda de Ψ_s foi mais forte nas cvs. 57-422 e GC 8-35 do que na cv.73-30.

Relativamente ao Ψ_p (Fig. 3.4), verificou-se que, nas cvs. 57-422 e 73-30, os valores mais baixos ocorreram em condições de S1, enquanto que na cv. GC 8-35 não se verificaram diferenças entre os dois níveis de seca.

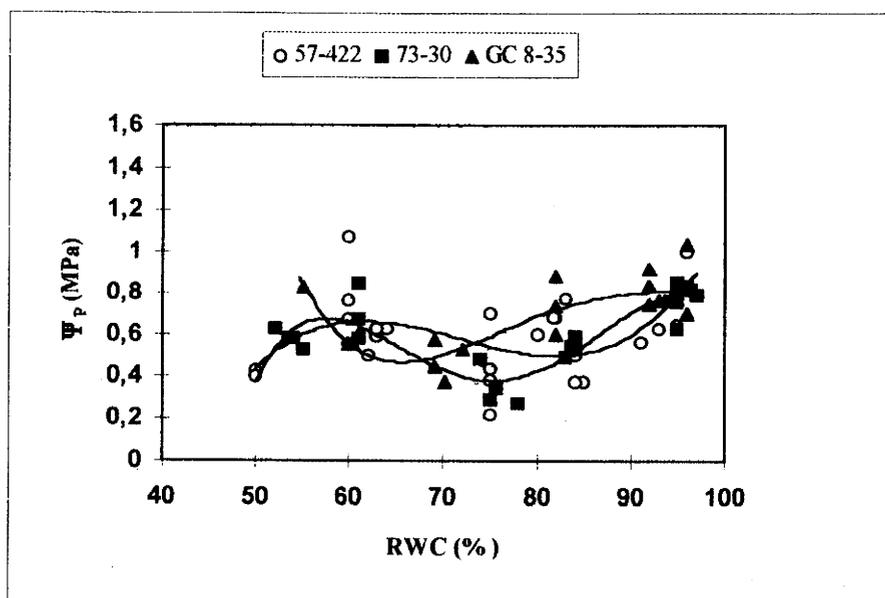


Fig. 3.4 Relação entre o potencial de pressão (ψ_p) e o teor hídrico relativo foliares (RWC). Cada ponto representa um valor individual.

3.3.6 Acumulação de açúcares solúveis e de prolina em condições de “stress” hídrico

Relativamente ao teor de açúcares solúveis nas raízes (Tab. 3.3), verificou-se que em condições de boa disponibilidade hídrica, as cvs. apresentaram entre si diferenças significativas, tendo a cv. 73-30 apresentado os mais elevados teores, aliás como também se verificou em condições de “stress” hídrico. Em condições de S1, o teor de açúcares solúveis nas raízes manteve-se inalterado, nas cvs. 73-30 e GC 8-35, mas aumentou significativamente na cv. 57-422. Em condições de S2, verificou-se um aumento significativo na cv. 73-30, tendo-se verificado o contrário nas cvs. 57-422 e

GC 8-35.

Tab. 3.3 Efeitos da seca sobre os teores de prolina nas folhas ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{P}_s$) e o de açúcares solúveis ($\text{mg g}^{-1} \text{P}_s$) nas raízes (Raíz) e nas folhas (Folhas). Os valores representam a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, controlo (C), seca moderada (S1) e seca severa (S2), enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

Cv.	Níveis de desidratação				
		C	S1	S2	
57-422	Prolina	Folha	1,2 \pm 0,1 ^(b;r)	1,3 \pm 0,0 ^(b;r)	12,0 \pm 0,1 ^(a;r)
	Açúcares solúveis	Raíz	178 \pm 13 ^(b;s)	202 \pm 4 ^(a;s)	126 \pm 17 ^(c;s)
		Folha	42 \pm 5 ^(b;r)	45 \pm 2 ^(b;t)	115 \pm 12 ^(a;r)
73-30	Prolina	Folha	0,9 \pm 0,1 ^(b;r)	1,0 \pm 0,0 ^(b;s)	7,1 \pm 0,3 ^(a;t)
	Açúcares solúveis	Raíz	290 \pm 13 ^(b;r)	285 \pm 16 ^(b;r)	330 \pm 39 ^(a;r)
		Folha	45 \pm 5 ^(c;r)	65 \pm 7 ^(b;s)	109 \pm 9 ^(a;r)
GC 8-35	Prolina	Folha	0,7 \pm 0,1 ^(b;r)	0,7 \pm 0,2 ^(b;t)	10,0 \pm 0,2 ^(a;s)
	Açúcares solúveis	Raíz	165 \pm 29 ^(a;s)	144 \pm 24 ^(a;t)	79 \pm 3 ^(b;t)
		Folha	49 \pm 3 ^(c;r)	96 \pm 2 ^(b;r)	117 \pm 12 ^(a;r)

Relativamente ao teor de açúcares solúveis nas folhas (Tab. 3.3), verificou-se que, em condições de boa disponibilidade hídrica, as cvs. não apresentaram entre si diferenças significativas. Por outro lado, verificou-se um aumento significativo de açúcares solúveis nas folhas das cvs. 73-30 e GC 8-35, observável já em condições de S1, enquanto que, na cv. 57-422, tal ocorreu apenas em condições de S2.

Relativamente à concentração de prolina nas folhas (Tab. 3.3), em condições de S1, não se verificaram nas cvs. estudadas alterações significativas. Em condições de S2, verificou-se, em todas as cvs., um significativo aumento, tendo as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentado os maiores valores.

3.3.6 Efeitos do “stress” hídrico sobre o teor de clorofilas e a área foliar específica

Em relação ao teor total de clorofilas, as cvs. não apresentaram diferenças significativas entre si em condições de boa disponibilidade hídrica (Tab. 3.4). O teor de clorofilas das cvs. 57-422 e 73-30 foi afectado, apenas, em condições de S₂. No entanto, na cv. GC 8-35 uma diminuição significativa começou a verificar-se já em condições de S₁. Por sua vez, a SLA aumentou também, apenas em condições de S₂ (Tab. 3.4).

Tab. 3.4 Efeitos da seca sobre a clorofila total (Chl Total, mg g⁻¹ P_s) e a área foliar específica (SLA, cm² g⁻¹) determinados a partir de discos foliares. Os valores representam a média ± SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

Cv.		Tratamento		
		C	S1	S2
57-422	Chl Total	15,3 ± 0,8 ^(a,r)	15,6 ± 0,5 ^(a,r)	12,8 ± 0,2 ^(b,r)
	SLA	281 ± 14 ^(b,s)	278 ± 10 ^(b,s)	321 ± 15 ^(a,s)
73-30	Chl Total	16,1 ± 0,7 ^(a,r)	17,4 ± 1,6 ^(a,r)	11,4 ± 0,1 ^(b,r)
	SLA	291 ± 22 ^(b,s)	299 ± 16 ^(b,s)	348 ± 16 ^(a,r)
GC 8-35	Chl Total	13,4 ± 0,9 ^(a,r)	9,1 ± 0,1 ^(b,s)	7,1 ± 0,0 ^(c,s)
	SLA	325 ± 6 ^(b,r)	320 ± 0 ^(b,r)	370 ± 1 ^(a,r)

3.4 DISCUSSÃO

O facto de o RWC se ter mantido praticamente inalterado, em todas as cvs., para valores elevados da “CC”, caindo depois de forma mais acentuada, nas cvs. 57-422 e GC 8-35, quando a “CC” atingiu valores inferiores a 60%, significa que, numa primeira fase, muito embora as plantas fossem transpirando e o teor de água do substrato fosse diminuindo, as moléculas de água eram ainda retidas pelo substrato com pouca energia, o que possibilitava a reposição da água transpirada com relativa facilidade. A partir de certos valores críticos da “CC”, as forças de retenção da água no solo tornaram-se

maiores e as plantas já não foram capazes de compensar as perdas de água, gerando-se então déficits hídricos internos, traduzidos em decréscimos do RWC, tanto mais acentuados quanto menor foi o valor da percentagem da “CC”.

Apesar do comportamento geral antes referido, as cvs. apresentaram diferenças com possível significado adaptativo. De facto, este tipo de trabalho justifica-se também pela procura de diferenças genotípicas relativamente à forma como as plantas gerem a absorção e o consumo de água ao longo de um período de seca, factos cuja resultante se traduz em diferentes velocidades de esgotamento da reservas hídricas do substrato e de desidratação celular.

Os resultados mostram que as cvs. estudadas apresentaram diferenças importantes em relação à forma como gerem a água. Neste aspecto é de destacar a cv. 73-30, pois, devido às suas baixas condutâncias e taxas transpiratórias logo na parte inicial do período de seca, manteve por mais tempo níveis de hidratação elevados, isto é, chegou ao fim do ciclo de seca com valores do RWC significativamente superiores ao das outras duas cvs., sem, portanto, nunca ter exposto o seu protoplasma a fortes desidratações.

De entre as características que determinam a resistência à seca é de realçar o comportamento estomático, que confere vastas possibilidades para o melhoramento (Ahamadi 1983, Ludlow e Muchove 1988). O fecho dos estomas constitui o principal mecanismo fisiológico de controlo das perdas de água (Hsiao 1973, Schulze 1986, Turner 1986), adaptando-se de forma reversível e rápidas às alterações do meio (Henzel *et al.* 1976, Jacquinet *et al.* 1984). Porém, a eficiência dos estomas na conservação da água depende de vários factores. Verifica-se, por exemplo, que ela é baixa quando a resistência aerodinâmica é elevada (Schulze 1988, Davies e Pereira 1992, Meinzer *et al.* 1993) e também quando o poder evaporativo do ar também é muito elevado (Fisher e

Turner 1978, Pereira *et al.* 1985), não sendo, neste caso, de descurar um efeito directo da humidade do ar sobre o encerramento estomático (Schulze 1986, Hernandez *et al.* 1989, EL-Sharkawy 1990). Portanto, apesar da importância dos estomas no controlo da transpiração, não é possível estabelecer, em alguns casos, uma relação absoluta entre g_s e T_r .

Os nossos resultados, não permitem de facto o estabelecimento de uma relação linear entre g_s e T_r , na parte final do ciclo de seca como já foi referido na apresentação dos resultados. Verificou-se em todas as cvs., no 8º dia do ciclo de seca, que, muito embora o valor de g_s fosse já muito baixo, a T_r foi ainda elevada. A explicação para tal facto pode ser encontrada no facto de a transpiração depender da condutância e do poder evaporativo do ar. De facto, como já foi referido, tem-se verificado que embora g_s baixe, se o poder evaporativo do ar for elevado, T_r mesmo assim continua a processar-se. Os resultados aqui obtidos apontam em certa medida nesta direcção pois, como na altura se referiu, o Δ_e atingiu na última fase da desidratação os valores mais elevados. Por outro lado, com o porómetro não se dissocia a g_s da g_c , o que pode ter acontecido também foi o aumento relativo desta última, facto que pode ser importante na cv. 73-30, dado apresentar uma elevada transpiração cuticular. Uma outra explicação tem a ver com o facto de a T_r ter sido determinada pelo método gravimétrico, havendo portanto um desfazamento entre este parâmetro e g_s , cuja medição é instantânea.

Como se verificou no capítulo anterior, a página adaxial destas cvs. apresentou-se com um maior número de estomas. Tivemos a curiosidade em ver até que ponto essas diferenças teriam influência nas taxas transpiratórias das duas páginas. Os resultados obtidos indicam diferenças no comportamento estomático das duas páginas. Aliás, esta diferença na sensibilidade dos estomas das duas páginas aos factores ambientais foi referida anteriormente em outras culturas (Sanchez-Diaz 1971). A principal diferença

está no facto de a g_{sabax} ter diminuído mais rapidamente que g_{sadox} , o que pode ter o seu interesse, se atendermos ao facto de que, no amendoim, nos períodos de maior desidratação a página abaxial é a mais exposta à acção dos raios solares como já foi apontado no Capítulo 2.

As curvas que relacionam o ψ_w com o RWC permitem-nos obter informações sobre aspectos importantes da estratégia das plantas para resistirem à seca (Sanchez-Diaz *et al.* 1971, Jones *et al.* 1981, Morgan 1983). As plantas que utilizam preferencialmente o “drought avoidance” como estratégia para resistirem à seca, fazem-no mantendo o ψ_w relativamente alto, enquanto que as que utilizam preferencialmente o “drought tolerance” para resistirem à seca, o fazem baixando muito o seu ψ_w (Blum *et al.* 1981).

Relativamente aos resultados obtidos, como se disse anteriormente, o ψ_w baixou muito mais nas cvs. 57-422 e a GC 8-35 do que na cv. 73-30, podendo-se inferir que as primeiras duas apresentam desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “tolerance”, enquanto que a cv. 73-30 apresenta desenvolvidos em maior grau os mecanismos do tipo “avoidance”. Também de acordo com vários autores (Sanchez-Dias e Kramer 1971, Turner e Henson 1989, Premachandra *et al.* 1992), o primeiro comportamento é típico das células com paredes celulares rígidas e o segundo é típico das células com paredes celulares elásticas.

Relativamente aos nossos resultados, verificou-se que, nas cvs. 57-422 e 73-30, o ψ_p foi mais elevado em condições de seca severa do que em condições de seca moderada, resultados semelhantes aos verificados em *Zea mays* L. (Premachandra *et al.* 1992) enquanto que na cv. GC 8-35 manteve-se praticamente inalterado, como também já foi observado em *Shorghum bicolor* (Wright *et al.* 1983) em *Cajanus cajan* e *Vigna unguiculata* L. (Lopez *et al.* 1987).

Quanto ao ψ_s , este parâmetro apresentou a mesma tendência do ψ_w , ou seja apesar de ter baixado, em todas as cvs., decresceu mais nas cvs. 57-422 e GC 8-35. A análise das curvas que relacionam o RWC com o ψ_s sugerem então, dado que, para o mesmo ψ_w , o ψ_p é tanto mais positivo quanto mais baixo for ψ_s , que as cvs. GC 8-35 e a 57-422 teriam sido as únicas a manter uma certa turgidez graças ao maior decréscimo dos respectivos ψ_s . Acontece que apesar de tal facto não se ter verificado na cv. 73-30 (ψ_s não baixou tanto como nas outras) esta manteve o ψ_p mais ou menos ao nível, por exemplo, da cv.57-422. Tal deve-se ao facto de, segundo Nunes *et al.* (1989), Ritcher e Kikuta (1989) e Matos (1990), a manutenção do ψ_p , em condições de seca, ser conseguida por duas vias: através do abaixamento do ψ_s e/ou da elevada elasticidade da paredes celulares. O primeiro caso, verificado nas cvs. 57-422 e GC 8-35 é uma das características das paredes rígidas, enquanto que o segundo caso, verificado na 73-30, é uma das características das paredes elásticas, o que vem em reforço do que se disse anteriormente. As duas características não são mutuamente exclusivas (Ritcher e Kikuta 1989) e talvez por isso mesmo a cv. 73-30 tenha apresentado um certo abaixamento do seu ψ_s , possivelmente à custa do aumento do teor em açúcares solúveis e de prolina, entretanto verificado.

Os nossos resultados mostraram que tanto o teor de açúcares solúveis como o de prolina nas folhas aumentaram em condições de seca, o que permitiu a todas as cvs. um certo ajuste osmótico, comprovado pela diminuição de ψ_s .

Em relação à prolina, os aumentos foram mesmo muito elevados, facto referido por outros autores em relação a outras espécies (Turner 1986, Sundaresan e Suddhakaran 1995) e, segundo Bates (1973), tal aumento é considerado, ao nível metabólico, como um dos mais marcantes efeitos da seca. A outra diferença diz respeito ao facto de, à semelhança de referências anteriores relativamente a outras espécies

(Munns e Weir 1981, Aspinall 1986), os aumentos na concentração da prolina se terem verificado apenas em condições de S2.

A primeira ilação a tirar do que foi dito anteriormente é a de que, em condições de S1, a contribuição da prolina para o ajuste osmótico não existiu em qualquer das cvs. A outra ilação que se pode tirar, de resto já referida também por Aspinall (1986) e Munns e Weir (1981), é a de que os aumentos de prolina apresentaram uma relação com a adaptação das plantas a baixos valores de ψ_w , acontecendo quando o crescimento poderá já ter sido inibido. A acumulação de prolina verificada neste trabalho poderá actuar tanto ao nível da função “osmorreguladora”, como ao nível da protecção das macromoléculas contra os efeitos da desidratação, emergindo então como um dos componentes da resistência protoplasmática.

O aumento da concentração dos açúcares solúveis com o decréscimo do ψ_s , sugere uma maior contribuição destes para o ajuste osmótico nos dois níveis de seca. O caso da 57-422 é uma excepção, em condições de S1, e para ela é de admitir que outros solutos que não os açúcares solúveis tenham tido um papel mais importante na queda do ψ_s .

3.5 CONCLUSÕES

Relativamente à conservação da água, a nota mais saliente diz respeito à cv. 73-30, a qual atingiu o final do ciclo de seca em condições de melhor hidratação que as outras duas cvs.. Esta cv. caracterizou-se também, por ter apresentado, relativamente, às outras duas, os mais baixos valores de g_s e de T_r (em condições de boa disponibilidade hídrica), uma menor taxa de transpiração acumulada e um teor hídrico relativo elevado no encerramento estomático. O seu comportamento como “avoider” é reforçado pelo facto de, relativamente ao ψ_w , ter apresentado os menores decréscimos. A elevada

transpiração cuticular pode ser perigosa quando o RWC atinge valores críticos.

As cvs. 57-422 e GC 8-35 consumiram mais rapidamente a água ao seu dispor, tendo apresentado no fim do ciclo de seca valores de RWC que podem ser perigosos para a sua sobrevivência em condições de seca. O “drought tolerance” destas duas cvs. é também posto em relevo pelo menor declive das curvas que relacionam o RWC com o ψ_w .

Ao contrário do se verificou em relação ao teor de açúcares solúveis, em que o aumento se processou de forma gradual, à medida que ψ_s baixou, o teor de prolina aumentou muito mais que o dos açúcares solúveis, mas apenas em condições de S2. Assim parece que os açúcares solúveis deram uma maior contribuição para o ajuste osmótico do que a prolina.

3.6 BIBLIOGRAFIA

Ahamadi N. & Puard M. 1984. Comportements hydriques de deux types variétaux de riz à l'égard des potentials décroissants de l'eau dans le milieu nutritif. *L'Agrono. Trop.* 39(3): 236-242.

Ashwell G. 1957. Colorimetric analysis of sugar. *Methods in enzymology* 4: 73-105.

Bates L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Barlow E.W.R. 1986. Water relations of expanding leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 45-58.

Blum A.; Gozlan G. & Mayer J. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germoplasm. *Crop Sci.* 22: 495-499.

Catský J. 1960. Determination of water deficit in discs cut out from leaf blades. *Biol. Plant.* 2: 76-78.

Davies W.J. & Pereira J.S. 1992. Plant growth and water use efficiency. In *Crop Photosynthesis: spatial and temporal determinants* (N.R. Baker e H. Thomas, eds.), pp. 213-233. Elsevier Science Publishers B.V..

El-Sharkawy M.A. 1990. Effect of humidity and wind on leaf conductance of field grown cassava. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal* 2: 17-22.

Fisher R.A. & Turner N.C. 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 277-317.

Ford C.W. & Wilson J.R. 1981. Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 77-91.

Good G.A. & Zaplachinski T.S. 1994. The effects of drought stress on free amino acids accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiol. Plant.* 90: 9-14.

Goscrove D. 1986. Biophysical control of plant cell growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 377-405.

Henzel R.G., Mccree K.J., van Bavel C.H.M. & Schertz K.F. 1976. Method for screening sorghum genotypes for stomatal sensitivity to water deficits. *Crop Sci.* 17: 516-518.

Hernandez A.P., Cock J.H. & El-Sharkawy M.A. 1989. The response of leaf gas exchange and stomatal conductance to air humidity in shade-grown coffee, tea, and cacao plants as compared with sunflower. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal* 1: 155-161.

Hinckley T.M., Duhme F., Hinckley A.R. & Richter H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant Cell Environ.* 5: 147-154.

Hsiao T.C. 1973. Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 519-70.

Hsiao T., O'Toole J.C., Yambao E.B. & Turner N. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol.* 75: 338-341.

Hygen G. 1951. Studies in plant transpiration I. *Physiol. Plant.* 4: 106-133.

Jacquinet L., Forget M. & Edah K.A. 1981. Resistance a la transpiration chez le riz pluvial (*Oryza sativa*). Étude d'un test de criblage variétal. *Agron. Trop.* 3: 247-252.

Jones H.G. 1979. Stomatal behavior and breeding for drought resistance. In *Stress Physiology in Crop Plants* (H. Mussell e R.C. Staples, eds.), pp. 408-427. John Wiley,

New York, USA.

Jones M.M., Osmond C.B. & 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. & Osmond C. B. 1981. Mechanisms of drought resistance. In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 15-35. Academic Press, Sydney, Australia.

Jouve L., Engelmann F., Noirot M. & Charrier A. 1993. Evaluation of biochemical markers (sugar, proline, malonedialdehyde and ethylene) for cold sensitivity in microcuttings of two coffee species. *Plant Sci.* 91: 109-116.

Lawlor D.W. & Uprety D.C. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crop and the biochemical mechanism. In *Photosynthesis: Photoreaction to Plant Productivity* (Y.P. Abrol, P. Mothany e Govinjee, eds.), pp.421-445. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, England.

Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.

Lopez F.B., Stter T.L. & McDavid 1987. Carbon dioxide and light responses of photosynthesis in cowpea and pigeonpea during water deficiency and recovery. *Plant Physiol.* 85: 990-995.

Ludlow M.M., Chu A.C.P., Clements R.J. & Kerlake R.G. 1983. Adaptation of species

of *Centrosema* to water stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 119-130.

Ludlow M.M. & Muchow R.C. 1988. Critical evaluation of the possibilities for modifying crops for high production per unit of precipitation. In *Drought Research Priorities for the Dryland Tropics* (IGRISAT, ed.), 179-210. Bambey, India

Matos M.C. 1990. A economia da água da macieira. Aspectos fisiológicos e aplicação ao controlo da rega. Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia Vegetal). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal.

McCree K.J. & Fernandez C.J. 1989. Simulation model for studying physiological water stress response of whole plants. *Crop Sci.* 29:353-360.

Meinzer F.C., Goldstein G., Holbrook N. M., Jackson P. & Cavelier J. 1993. Stomatal and environmental control of transpiration in a lowland tropical forest tree. *Plant, Cell Environ.* 16: 429-436.

Morgan J.M. 1983. Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 607-614.

Morgan J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 299-319.

Munns R. & Weir R. 1981. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 93-105.

Nunes M.A. 1967. Um estudo comparativo da resistência à secura em cacauzeiros. *Garcia de Orta* 15: 361-366.

Nunes M.A., Catarino F. & Pinto E. 1989. Strategies for acclimation to seasonal drought in *Ceratonia siliqua* leaves. *Physiol. Plant.* 77: 150-156.

Ober E.S. & Sharp R.E. 1994. Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. I. Requirement for increased levels of abscisic acid. *Plant Physiol.* 105: 981-987.

Paleg L.G., Douglas T.J., van Daal A. & Keech D. B. 1981. Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 107-114.

Pereira J.S., Tenhunen J.D., Lange O.L., Beyschlag W., Meyer A. & David M.M. 1985. Seasonal and diurnal patterns in leaf gas exchange of *Eucalyptus globulus* trees growing in Portugal. *Can. J. For. Res.* 16: 177-184.

Pérez-Alfocea F. & Larher F. 1995. Sucrose and proline accumulation and sugar efflux in tomato leaf discs affected by NaCl and polyethylene glycol 6000 iso-osmotic stresses. *Plant Sci.* 107: 9-15.

Premachandra A.S., Saneoka H., Fujita K. & Ogata O. 1992. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. *J. Exp. Bot.* 43: 1451-1456.

Raggi V. 1994. Changes in free amino acids and osmotic adjustment in leaves of water-stressed bean. *Physiol. Plant.* 91: 427-434.

Richter H. & Kikuta S. 1989. Osmotic and elastic components of turgor adjustment in leaves under stress. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 129-137. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Rodrigues M.L., Chaves M.M., Wendler R., David M.M., Quick W.P., Leegood R.C., Stitt M. & Pereira J.S. 1993. Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 309-321.

Sanchez-Dias M.F., & Kramer P.J. 1971. Behaviour of corn and sorghum under water stress and during recovery. *Plant Physiol.* 48: 613-616.

Santos-Díaz M.S. & Ochoa-Alejo 1994. Effect of water stress on growth, osmotic potential and solute accumulation in cell cultures from chili pepper (a mesophyte) and creosote bush (a xerophyte). *Plant Sci.* 96: 21-29.

Scholander P.F., Hammel H.T., Bradstreet E.D. & Hemingsen E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sci.* 148: 339-346.

Schulze E.-D. 1986. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 247-74.

Skackel K.A. & Hall A.E. 1983. Comparison of water relations and osmotic adjustment in sorghum and cowpea under field conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 423-435.

Sundaresan S. & Sudhakaran T. 1995. Water stress-induced alterations in the proline metabolism of drought-susceptible and tolerant cassava (*Manihot esculenta*) cultivars. *Physiol. Plant.* 94: 635-642.

Turner N.C. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 175-190.

Turner N.C. & Henson I.E. 1989. Comparative water relations and gas exchange of wheat and lupins in the field. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 293-304. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Wang Z., Quebedeaux B. & Stutte G. 1995. Osmotic adjustment: effect of water stress on carbohydrates in leaves, stems and roots of apple. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 747-754.

Wright G.C., Smith R.C.G. & Morgan J.M. 1983. Differences between two grain sorghum genotypes in adaptation to drought stress. III Physiological responses. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 637-651.

CAPÍTULO 4

EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NO CRESCIMENTO, PARTIÇÃO DA BIOMASSA E NA EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA

4.1 INTRODUÇÃO

Como se afirmou atrás, a resistência à seca é determinada por um conjunto de características morfológicas, anatómicas, fisiológicas e bioquímicas (Ahamadi e Puard 1984, Khalfaoui e Annerose 1986). Os aspectos morfológicos têm uma grande importância nas relações hídricas das plantas, na medida em que as características das raízes são importantes determinantes do processo de extração da água do solo, enquanto que as dimensões e distribuição espacial do aparelho foliar afectam o estado hídrico da planta através da transpiração, bem como condicionam a produção de biomassa. Para além disso, é de considerar as vantagens experimentais decorrentes da sua utilização nos estudos de

resistência à seca: são o reflexo integrado do processo em estudo, ultrapassando as limitações decorrentes das medições instantâneas. Os aspectos morfológicos, se associados à quantificação do consumo de água, facultam-nos informações importantes acerca de aspectos de grande importância para a sobrevivência das plantas em condições de seca tais como: diferenças genotípicas relativamente à capacidade de produção de biomassa, distribuição dos assimilados pelos diferentes órgãos e da eficiência com que utilizam a água. Apesar disto e de acordo com Hudak e Patterson (1995), a contribuição das características morfológicas não tem sido adequadamente explorada.

Dado a pertinência do tema e, muito essencialmente, pelo facto de ocorrerem diferenças intra-específicas, o objectivo deste capítulo foi o de analisar o efeito da seca, utilizando os aspectos morfológicos e de funcionamento, nomeadamente a produção da biomassa total, a partição de assimilados e a eficiência do uso da água.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Germinação, determinação da capacidade de vaso e condições gerais de crescimento.

Para a germinação, determinação da capacidade de vaso e as condições gerais de crescimento, procedeu-se conforme se descreveu no Capítulo 2.

4.2.2 Imposição do “stress” hídrico

As plantas foram regadas sempre que necessário, para que se mantivessem em boas condições hídricas, isto é, próximo de 90% da “CC”, até aos 40 dias de idade. A partir desta data (portanto depois da colheita referente ao tempo t_1) e durante 30 dias, altura em que se realizou a outra colheita do material vegetal (correspondente ao tempo t_2), a seca foi

imposta por suspensão da rega e as plantas foram agrupadas em dois grupos: o grupo controlo (C) em que as plantas eram regadas de forma a se manterem a 90% da “CC” e o grupo do tratamento (S), em que as plantas eram submetidas a ciclos de seca, só sendo regadas, para repor a água à “CC”, quando os vasos atingiam um peso correspondente a aproximadamente 70% “CC”. A adição da solução nutritiva (Hoagland e Snyder 1933), fazia-se a todas as plantas antes do início de cada ciclo de seca.

4.2.3 Cálculo dos índices de crescimento

O cálculo dos índices de crescimento foi realizado conforme foi descrito no Capítulo 2.

4.2.4 Determinação da biomassa e das dimensões do aparelho assimilador

As duas colheitas, assim como a determinação da biomassa radicular (W_R), caulinar (W_C), foliar (W_F) e do peso seco das vagens foram realizadas segundo o procedimento descrito no Capítulo 2. O mesmo em relação à biomassa total (TDM, gramas de matéria seca por planta) e a razão raiz/parte aérea. A percentagem de afectação (%A) foi utilizada para quantificar a sensibilidade de cada órgão a seca e foi calculada pela fórmula: $\%A = (C - S)/C \times 100$, em que C é o valor da biomassa do respectivo órgão em condições de boa disponibilidade hídrica e S o seu respectivo valor em condições de seca. Portanto, os valores positivos e negativos significam, relativamente ao tratamento controlo, decréscimos e incrementos, respectivamente. A área foliar e o número de folhas foram determinadas conforme foi descrito no Capítulo 2.

4.2.5 Determinação da eficiência do uso da água a longo prazo

A eficiência do uso da água a longo prazo (WUE) foi calculada pela razão entre a variação da biomassa (dw) produzida no intervalo de tempo considerado, expressa em gramas (g), e a correspondente quantidade de água consumida (AC) expressa em quilogramas (kg). A variação de biomassa (dw) foi calculada pela diferença entre a produção de biomassa total no tempo t_2 e a produção de biomassa total no tempo t_1 .

A determinação de (AC) entre aqueles dois intervalos de tempo foi feita utilizando o método gravimétrico, pesando o conjunto vaso-substrato-planta. Para subtrair a evaporação, a superfície livre dos vasos foi coberta com uma camada de perlite. Não sendo no entanto este material completamente impermeável, prepararam-se dois conjuntos de vasos, sem plantas, mas com a superfície livre coberta com perlite; um que foi sujeito ao tratamento de rega idêntico ao das plantas testemunha e outro com o tratamento das plantas sob "stress". A AC foi então calculada com maior rigor, pela diferença entre o peso dos vasos com planta protegidos com perlite e o dos vasos apenas com perlite.

4.2.6 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados, aplicou-se, aos parâmetros estudados, uma análise de variância (ANOVA) com dois factores com um nível de confiança de 95%. Baseado nos resultados da ANOVA, utilizou-se o teste de Tukey para a comparação de médias entre os genótipos (r, s) ou condições hídricas (a, b).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Efeitos do "stress" hídrico sobre algumas características da folha

Em condições de boa disponibilidade hídrica, a cv. 57-422 apresentou uma maior

Tab. 4.1 Efeitos da seca sobre algumas características da folha, nomeadamente a área foliar (A_F , cm^2), número de folhas (N_F), razão do peso foliar (LWR, g g^{-1}) e a área foliar específica (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Características da folha					
Cv.	Tratamento	A_F	N_F	LWR	SLA
57-422	C	455 ± 34 ^(a,r)	174 ± 27 ^(a,r)	$0,50 \pm 0,02$ ^(a,r)	142 ± 0 ^(a,t)
	S	246 ± 0 ^(b,r)	123 ± 8 ^(a,r)	$0,37 \pm 0,00$ ^(b,r)	150 ± 0 ^(a;s)
73-30	C	248 ± 31 ^(a;s)	114 ± 18 ^(a,r)	$0,40 \pm 0,03$ ^(a;s)	155 ± 0 ^(b;s)
	S	244 ± 20 ^(a,r)	108 ± 14 ^(a,r)	$0,34 \pm 0,01$ ^(a,r)	212 ± 0 ^(a,r)
GC 8-35	C	315 ± 21 ^(a;s)	129 ± 12 ^(a,r)	$0,42 \pm 0,00$ ^(a;s)	192 ± 5 ^(a,r)
	S	294 ± 21 ^(a,r)	90 ± 10 ^(a,r)	$0,40 \pm 0,02$ ^(a,r)	205 ± 6 ^(a,r)

área foliar total (Tab. 4.1). A seca provocou uma redução significativa da área foliar, apenas na cv. 57-422 (Tab. 4.1). Em condições de seca, apesar de as diferenças entre as cvs. não serem significativas, a cv. GC 8-35 revelou uma tendência para se apresentar com uma maior área foliar (Tab. 4.1). Quanto ao número de folhas (Tab. 4.1), verificou-se, em condições de boa disponibilidade hídrica, que, apesar de as diferenças não terem sido significativas, ele foi maior na cv. 57-422. A seca não provocou alterações significativas no número de folhas. Em termos percentuais, o número de folhas foi mais afectado que a área foliar na cv. GC 8-35, enquanto que o contrário se verificou na cv. 57-422.

Em condições de boa disponibilidade hídrica, os maiores valores da LWR foram observados na cv. 57-422, enquanto que os maiores valores da SLA verificaram-se na cv. GC 8-35 e os mais baixos na cv. 57-422 (Tab. 4.1). O “stress” hídrico provocou um decréscimo significativo da LWR apenas na cv. 57-422, não se tendo verificado nestas

condições hídricas diferenças significativas entre as cvs. O “stress” hídrico provocou aumentos significativos da SLA na cv. 73-30, enquanto que nas outras duas cvs., apesar de a tendência ter sido o aumento, tais alterações não foram significativas.

4.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre alguns índices de crescimento

Em condições de boa disponibilidade hídrica, os maiores valores da LAR ocorreram nas cvs. 57-422 e GC 8-35 (Tab. 4.2), enquanto que os maiores valores da NAR foram observados nas cvs. 57-422 e 73-30. Nestas condições hídricas, os maiores valores da RGR

Tab. 4.2 Efeitos da seca sobre a razão de área foliar (LAR, $m^2 kg^{-1}$), taxa de assimilação aparente (NAR, $g m^{-2} dia^{-1}$), taxa de crescimento relativo (RGR, $mg g^{-1} dia^{-1}$), duração da área foliar (LAD, $dm^2 dia$) e a produção total de matéria seca (TDM, g). Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.	Tratamento	LAR	NAR	RGR	LAD	TDM
57-422	C	71 \pm 3 ^(a,r)	7,1 \pm 0,4 ^(a,r)	50 \pm 1 ^(a,r)	92 \pm 8 ^(a,r)	6,5 \pm 0,36 ^(a,r)
	S	59 \pm 0 ^(b,s)	3,5 \pm 0,1 ^(b,r)	21 \pm 4 ^(b,r)	65 \pm 2 ^(b,r)	4,4 \pm 0,0 ^(b,r)
73-30	C	62 \pm 5 ^(b,s)	5,2 \pm 0,7 ^(a,rs)	33 \pm 5 ^(a,r)	58 \pm 5 ^(a,t)	4,0 \pm 0,3 ^(a,s)
	S	73 \pm 3 ^(a,r)	3,7 \pm 0,0 ^(b,r)	27 \pm 6 ^(a,r)	57 \pm 3 ^(a,r)	3,4 \pm 0,2 ^(a,s)
GC 8-35	C	80 \pm 3 ^(a,r)	3,8 \pm 0,6 ^(a,s)	31 \pm 5 ^(a,r)	76 \pm 3 ^(a,s)	3,9 \pm 0,1 ^(a,s)
	S	82 \pm 1 ^(a,r)	3,1 \pm 0,1 ^(a,r)	26 \pm 4 ^(a,r)	73 \pm 4 ^(a,r)	3,7 \pm 0,2 ^(a,s)

verificaram-se na cv. 57-422. Em condições de “stress” hídrico, LAR decresceu na cv. 57-422, sofreu um aumento na cv. 73-30 e manteve-se inalterada na cv. GC 8-35. Por sua vez, NAR manteve-se inalterada na cv. GC 8-35 e decresceu significativamente nas cvs. 57-422 e 73-30 (Tab. 4.2), enquanto que RGR decresceu significativamente na cv. 57-422 e manteve-se relativamente estável nas outras duas cvs., não se tendo verificado diferenças

significativas entre todas as cvs..

Em condições de boa disponibilidade hídrica, os maiores valores de LAD e TDM ocorreram na cv. 57-422 (Tab. 4.2). Em condições de “stress” hídrico, estes dois parâmetros sofreram decréscimos significativos apenas na cv. 57-422 e permaneceram inalterados nas outras duas cvs. (Tab. 4.2). Nestas condições hídricas, relativamente à LAD, as cvs., não apresentaram entre si diferenças significativas, enquanto que em relação à TDM, a cv. 57-422 apresentou os maiores valores.

4.3.3 Efeitos do “stress” hídrico sobre a produção de biomassa radicular, caulinar e foliar

Em relação a W_R (Tab. 4.3), verificou-se, que, em condições de boa disponibilidade

Tab. 4.3 Efeitos da seca sobre a biomassa radicular (W_R), caulinar (W_C) e foliar (W_F). Cada valor expresso em gramas de peso seco representa a média \pm SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.	Tratamento	W_R	W_C	W_F
57-422	C	0,5 \pm 0,0 ^(a;r)	2,8 \pm 0,2 ^(a;r)	3,2 \pm 0,2 ^(a;r)
	S	0,6 \pm 0,0 ^(a;r)	2,2 \pm 0,0 ^(b;r)	1,7 \pm 0,0 ^(b;r)
73-30	C	0,3 \pm 0,0 ^(b;s)	2,1 \pm 0,1 ^(a;s)	1,6 \pm 0,2 ^(a;s)
	S	0,5 \pm 0,0 ^(a;r)	1,7 \pm 0,1 ^(b;s)	1,2 \pm 0,1 ^(b;r)
GC 8-35	C	0,3 \pm 0,0 ^(b;s)	2,0 \pm 0,1 ^(a;s)	1,6 \pm 0,1 ^(a;s)
	S	0,5 \pm 0,1 ^(a;r)	1,6 \pm 0,1 ^(b;s)	1,4 \pm 0,1 ^(a;r)

hídrica, a cv. 57-422 também superou significativamente as outras duas cvs.. Em condições de seca, W_R aumentou significativamente nas cvs. 73-30 e GC 8-35 (Tabs. 4.3). Nestas condições hídricas, as cvs. não apresentaram diferenças significativas entre si.

Em condições de boa disponibilidade hídrica, a produção de W_C foi

significativamente maior na cv. 57-422 (Tab. 4.3). A seca provocou, em todas as cvs., um decréscimo significativo da W_C (Tab. 4.3). Em condições de seca, a cv. 57-422 apresentou valores significativamente mais altos de W_C .

No tocante à W_F (Tab. 4.3), verificou-se que, em condições de boa disponibilidade

Tab. 4.4. Sensibilidade dos diferentes órgãos da planta à seca, expressa como percentagem de variação em relação ao controlo. Cada valor representa a média \pm SE (n=5).

Cv.	Raiz	Caule	Folhas
57-422	-20 \pm 4,7	21 \pm 4,9	47 \pm 4,1
73-30	-67 \pm 11,0	19 \pm 7,5	25 \pm 5,2
GC 8-35	-67 \pm 15,1	20 \pm 7,2	13 \pm 2,6

hídrica, a 57-422 diferenciou-se significativamente das cvs. 73-30 e GC 8-35, apresentando a maior produção de W_F . A seca provocou um decréscimo significativo na W_F das cvs. 57-422 (principalmente nesta cv.) e 73-30 (Tabs. 4.3-4.4). Na cv. GC 8-35, a alteração não foi significativa. Nestas condições hídricas, embora a diferença entre as cvs. tenda a ser menor em relação ao verificado para o controlo (não são mesmo significativas), a cv. 57-422 apresentou, relativamente às outras duas, uma maior W_F .

4.3.4 Efeito do “stress” hídrico sobre a produção de vagens

Em condições de boa disponibilidade hídrica, as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram, em relação à cv. 73-30, produções de vagens significativamente mais elevadas. Em condições de seca, a produção de vagens sofreu decréscimos significativos nas cvs. 57-422 e GC 8-35. Nestas condições hídricas, a cv. GC 8-35 apresentou, em relação às outras duas cvs., produções de vagens significativamente mais elevadas (Fig.

4.1).

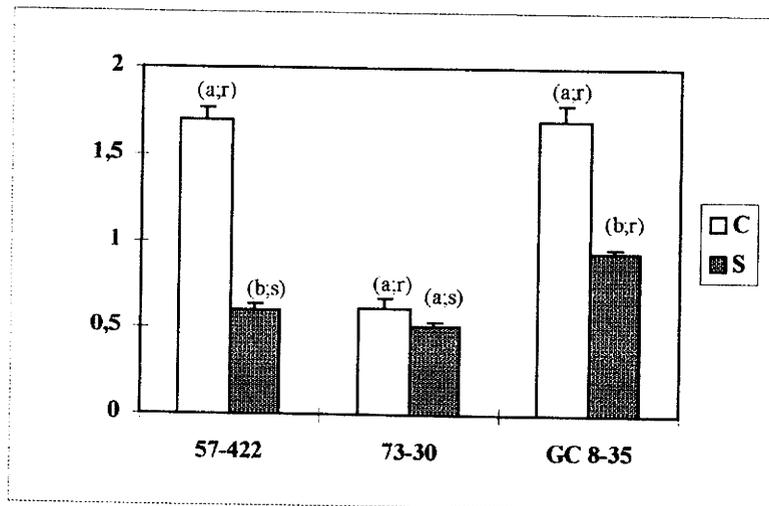


Fig. 4.1 Efeito da seca sobre o peso de vagens (determinado após secagem das mesmas ao ar livre) por planta. Cada valor expresso em gramas representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

4.3.5 Efeito do “stress” hídrico sobre a partição da biomassa

As alterações antes mencionadas provocaram uma alteração nos padrões normais da distribuição da biomassa pelos diferentes órgãos das plantas (Tab. 4.5 e Figs. 4.2).

4.3.5.1 Efeito do “stress” hídrico na percentagem relativa dos diferentes órgãos da planta

A percentagem de raízes aumentou significativamente em condições de seca, em todas as cvs. (Tab. 4.5). Quanto à percentagem de caules, ela aumentou significativamente na cv. 57-422, enquanto que nas outras duas (apesar de uma tendência para decrescer na cv. GC 8-35) não foi significativamente alterada (Tab. 4.5). A seca provocou um decréscimo significativo na percentagem de folhas das cvs. 57-422 e 73-30, enquanto que na GC 8-35 não foi significativamente alterada.

Tab. 4.5 Efeito da seca sobre a partição da biomassa, expressa como percentagem do peso seco (P_s) total. Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs em cada tratamento.

Cv.	Tratamento	Raiz (%)	Caule (%)	Folhas (%)
57-422	C	$7 \pm 0,1$ ^(b;r)	$43 \pm 1,8$ ^(b;s)	$50 \pm 1,7$ ^(a;r)
	S	$13 \pm 0,56$ ^(a;s)	$50 \pm 0,4$ ^(a;r)	$37 \pm 0,1$ ^(b;r)
73-30	C	$7 \pm 0,3$ ^(b;r)	$53 \pm 3,6$ ^(a;r)	$40 \pm 3,1$ ^(a;s)
	S	$14 \pm 0,5$ ^(a;r)	$51 \pm 1,9$ ^(a;r)	$34 \pm 1,2$ ^(b;r)
GC 8-35	C	$7 \pm 0,1$ ^(b;r)	$50 \pm 0,6$ ^(a;r)	$42 \pm 0,4$ ^(a;s)
	S	$15 \pm 0,3$ ^(a;r)	$45 \pm 1,5$ ^(a;r)	$40 \pm 1,2$ ^(a;r)

4.3.5.2. Efeito do “stress” hídrico sobre a razão raiz/parte aérea

Quanto à razão raiz/parte aérea (Fig. 4.2), verificou-se que, tanto em condições de

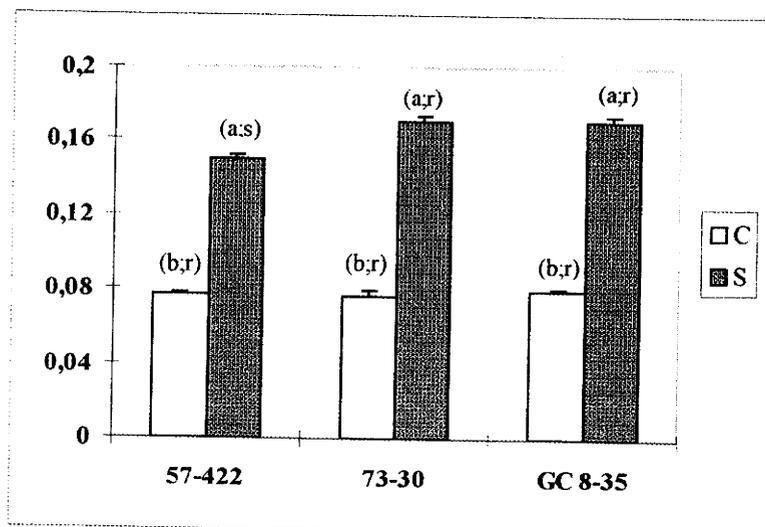


Fig. 4.2 Efeito da seca sobre a razão raiz/parte aérea. Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

boa disponibilidade hídrica como em condições de seca, as cvs. não diferiram significativamente entre si. Em condições de seca, esta razão aumentou

em todas as cvs.

Os resultados apresentados (Tabs. 4.3-4.5) sugerem que a cv. 57-422 fez o ajustamento da razão raiz/parte aérea, essencialmente à custa de fortíssimos decréscimos da parte aérea (caules e folhas), enquanto que a cv. GC 8-35 fê-lo à custa de fortes aumentos W_R (a parte aérea não foi afectada). A 73-30 aumentou esta razão, não só devidos aos significativos decréscimos da parte aérea (folhas), mas também devido aos significativos aumentos da sua W_R .

4.3.6 Efeito do “stress” hídrico sobre a WUE

As cvs. apresentaram diferenças em relação à WUE (Tab. 4.6). Assim, em condições de boa disponibilidade hídrica, os valores apresentados pelas cvs. 57-422 e 73-30 foram significativamente mais elevados do que os apresentados pela cv. GC 8-35. Nestas condições, dw foi significativamente maior na 57-422 (Tab. 4.6). Ainda em condições de boa disponibilidade hídrica, verificou-se que o consumo de água foi significativamente maior nas cvs. 57-422 e GC 8-35 (Tab. 4.6). Em condições de seca, verificou-se, em todas as cvs. estudadas, um aumento da WUE (Tab. 4.6), significativos apenas para as cvs. 57-422 e GC 8-35. Por sua vez, dw decresceu significativamente apenas na cv. 57-422, enquanto que, relativamente à AC, tal facto ocorreu nas cvs. 57-422 e GC 8-35 (Tab. 4.6). Em condições de seca, os valores de AC, foram significativamente maiores nas cvs. 73-30 e GC 8-35, enquanto que os valores de WUE foram significativamente maiores na cv. 57-22.

Verificou-se, em todas as cvs., que as restrições ao consumo de água foram sempre superiores às restrições no incremento da biomassa. Contudo, algumas diferenças podem ser apontadas. A redução do consumo de água, na cv. GC 8-35, foi 2,9 vezes maior do que a redução no crescimento. Nas cvs. 57-422 e 73-30, foi também maior, 1,4 e 1,1 vezes,

respectivamente. A cv. 57-422 foi a única em que a seca provocou decréscimos significativos no dw.

Tab. 4.6 Efeitos da seca sobre a variação da biomassa (dw, g de peso seco), água consumida (AC, kg) e a eficiência do uso de água (WUE, g kg⁻¹) durante um intervalo de tempo de 30 dias. Cada valor representa a média ± SE (n=5). As letras *a* e *b* representam diferenças significativas entre os tratamentos controlo (C) e seca (S), enquanto que as letras *r* e *s* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.	Tratamento	dw	AC	WUE
57-422	C	3,91 ± 0,24 ^(a;r)	0,95 ± 0,04 ^(a;r)	4,12 ± 0,16 ^(b;r)
	S	1,88 ± 0,19 ^(b;r)	0,29 ± 0,02 ^(b;s)	6,48 ± 0,31 ^(a;r)
73-30	C	2,16 ± 0,17 ^(a;s)	0,58 ± 0,10 ^(a;s)	3,80 ± 0,31 ^(b;r)
	S	1,53 ± 0,28 ^(a;r)	0,40 ± 0,14 ^(a;r)	4,21 ± 0,72 ^(a;s)
GC 8-35	C	2,17 ± 0,07 ^(a;s)	0,76 ± 0,07 ^(a;r)	2,90 ± 0,19 ^(b;s)
	S	1,80 ± 0,27 ^(a;r)	0,39 ± 0,07 ^(b;r)	4,67 ± 0,55 ^(a;s)

4.4 DISCUSSÃO

LAR depende da SLA e da LWR. Os decréscimos da LAR, na cv. 57-422 estão associados aos decréscimos da LWR, enquanto que, na cv. 73-30, o aumento da LAR está associado aos aumentos da SLA. Por sua vez, a estabilidade da LAR na cv. GC 8-35 pode ser explicada pela estabilidade (entretanto observada) dos seus dois componentes. De uma forma geral, SLA revelou-se mais susceptível a alterações do que a LWR, já que de acordo com Teixeira e Ricardo (1983), este componente da LAR é uma característica relativamente estável sob a acção de diferentes condições ambientais.

LAR e NAR são os dois componentes da RGR. De uma maneira geral, em termos percentuais, a NAR foi o mais afectado que a LAR. No caso da cv. 73-30, tal poderá ser devido aos aumentos significativos da SLA, facto que lhe terá retirado uma certa eficiência fotossintética, enquanto nas outras duas cvs., as causas de tal decréscimo podem estar relacionadas com gastos na manutenção da SLA ou com o ajustamento osmótico. Como se

viu, RGR decresceu significativamente apenas na cv. 57-422, o que vai de encontro aos resultados verificados em trabalhos anteriores com outras culturas (Cutler e Rains 1977, Pandey *et al.* 1984, Simane *et al.*, 1993), podendo tal facto ser explicado pelos decréscimos de LAR e NAR.

Em função dos resultados obtidos neste trabalho, pode dizer-se que os decréscimos significativos da LAR e da NAR (principalmente este) explicam na cv., 57-422, os significativos decréscimos da RGR. Por sua vez, na cv. 73-30, o aumento da LAR compensou a diminuição da NAR permitindo a estabilidade da RGR, enquanto que na cv. GC 8-34, a manutenção da RGR relaciona-se com a relativa estabilidade dos seus dois componentes. Portanto, alicerçada nos factores de capacidade (maior área foliar e elevada LAR) e nos factores de eficiência (maior NAR), a estratégia da 57-422 consistiu em crescer de forma, enquanto houve água e restringir fortemente o crescimento quando ela escasseou.

A cv. 57-422 apresentou, em condições de boa disponibilidade hídrica, os maiores valores de RGR, como já foi dito, e também os maiores valores de TDM. Resultados similares foram também observados anteriormente tanto em monocotiledóneas como em dicotiledóneas (van Andel e Biere 1990), reflectindo uma maior capacidade competitiva dos genótipos com maior RGR (Poorter 1990, van Andel e Biere 1990). À semelhança do que foi observado anteriormente em outras espécies (Nagarajah e Schulze 1983, Wright *et al.* 1983 Simane *et al.*, 1993), a cv. 57-422 foi a única que apresentou decréscimos significativos de TDM em condições seca. Apesar disto, dados os elevados valores iniciais conseguiu ainda assim apresentar uma elevada produção de matéria seca, o que pode ter sido importante para a produção de vagens.

Outro aspecto que tem merecido atenção de vários autores (Bansa *et al.* 1992, Medrano e Vadell 1992, Lawlor 1995) é o que diz respeito às relações entre o TDM e o

índice de colheita (HI), já que o aumento da produtividade agrícola pode ser feito, quer aumentando a produção de TDM, quer aumentando a eficiência com que ela é canalizada para o produto agronomicamente útil.

Apesar de os resultados relativos a produção de biomassa e produção de vagens terem sido obtidos de ensaios diferentes, pode-se considerar que o comportamento da cv. 57-422, relativamente à cv. 73-30, reflecte uma associação positiva entre a produção de matéria seca e a de vagens e sugere, tendo em conta apenas estes índices de crescimento, que a cv. 57-422 consegue uma maior produção de vagens à custa de uma maior produção de TDM. A cv. GC 8-35, apesar de ter uma TDM igual à da cv. 73-30, apresentou uma produção de vagens muito superior, só igualada pela 57-422, a qual como já foi dito, teve, relativamente a ela, uma TDM muito superior. Portanto, tendo apenas em consideração estes dados, o comportamento da cv. GC 8-35, relativamente às outras duas, revelou uma fraca associação entre a TDM e a produção de vagens, a qual se traduziu numa maior eficiência na canalização da biomassa para o produto agronomicamente útil, facto já anteriormente referido por vários autores noutras plantas (Barneix 1990, Bansa *et al.* 1992, Lawlor 1995).

De acordo com Ceulemans (1990), a produtividade das plantas é o resultado de complexas interacções entre o ambiente e a sua constituição genética, sendo esta interacção influenciada não só pelas taxas fotossintéticas e produção de biomassa mas também pela distribuição desta pelas diferentes partes da plantas. Os nossos resultados mostram que a seca alterou o padrão normal da partição dos assimilados.

O aumento da massa radicular observado nos nossos trabalhos está de acordo com resultados anteriores obtidos em várias espécies (Markart III *et al.* 1979, Hoogenboom *et al.* 1987a, Wright *et al.* 1983, Wright e Smith 1983, Schopfer e Plachy 1985, Saab *et al.*

1987). No âmbito da adaptação das plantas a seca, esta é uma das mais importantes alterações morfológicas, já que tal facto lhes permite aumentar o volume de solo explorado pelas raízes e portanto a água disponível. Contudo, em termos de conservação da água, a eficiência deste mecanismo dependerá da taxa a que ela é transferida para a atmosfera através da transpiração, a qual a curto prazo é controlada essencialmente pela condutância estomática e a médio-longo prazo pela redução da superfície transpirante. A alteração da razão raiz/parte aérea, quando se passa de situações de boa disponibilidade hídrica para situações de seca, é, por isso, utilizada nos estudos de resistência à seca como parâmetro que reflecte de forma integrada o controlo da transpiração ao nível radicular e foliar. Os resultados mostram que razão raiz/parte aérea aumentou, em todas cvs. estudadas, como também já foi observado em *Sorghum spp.* (Wright *et al.* 1983), *Glycine max.* (Huck *et al.* 1986) e *Triticum turgidum* L. var. *durum* (Simane *et al.* 1993). O aumento da razão raiz/parte aérea resulta da alteração do balanço hormonal induzido pela seca (Bradford e Hsiao 1982, Hsiao e Bradford 1983, Davies *et al.* 1986, Guinn *et al.* 1990, Morgan *et al.* 1990), que tem como efeito uma alteração diferencial do crescimento da parte aérea e da raiz, inibindo o crescimento da primeira e estimulando o da segunda (McCreen e Fernandez 1989, Creelman *et al.* 1990, Saab *et al.* 1990).

Dado que os dois componentes desta razão têm funções diferentes, interessou-nos destringir o grau de afectação de cada um deles e procurar diferenças varietais. Na cv. 57-422, a razão raiz/parte aérea aumentou, não porque a biomassa radicular tenha sofrido forte incremento, mas essencialmente pelo facto de a parte aérea, principalmente a biomassa foliar ter sofrido grande redução, como também já foi observado em outros trabalhos com outras culturas (Pandey *et al.* 1983, Huck *et al.* 1986 e Hoogenboom *et al.* 1987b); na 73-30 tal é devido a um fortíssimo aumento da biomassa radicular e forte decréscimo da parte

aérea, enquanto que a GC 8-35 consegue-o mantendo a parte aérea praticamente intacta e aumentado significativamente a sua biomassa radicular. Assim sendo, a cv. GC 8-35 parece ser a que apresentou o melhor ajuste da razão raiz/parte aérea, pois aumentou a capacidade de absorver água sem que contudo tenha prejudicado de forma substancial as dimensões do aparelho assimilador.

Por último, convém também analisar a forma como foram afectados os dois componentes da parte aérea, já que a transpiração se faz preferencialmente nas folhas, caule atribuindo-se ao caule funções de armazenamento de água e outras substâncias que podem ser mobilizadas em caso de carência hídrica (Larcher 1995, Rodrigues *et al.* 1995). Consequentemente reduzir mais a biomassa foliar do que a biomassa caulinar poderá ser vantajoso. De uma forma geral e em termos percentuais, a biomassa foliar foi mais afectada que a caulinar, facto mais evidente nas cvs. 57-422.

Os resultados obtidos mostram que os níveis de deficit hídrico utilizados neste trabalho provocaram um aumento da WUE de todas as cvs., mas significativos apenas nas cvs. 57-422 e GC 8-35, como de resto já foi verificado em *Vigna unguiculata* (Turk e Hall 1980), *Amaranthus hypocondriacus*, *Amaranthus retroflexus*, *Portulaca oleracea*, *Beta vulgaris*, *Chenopodium album* (Miller *et al.* 1984) e *Plantago spp.* (Sawada e Sugai 1984).

A WUE pode ser aumentada, em condições de seca, tanto pela menor redução do crescimento em relação à redução ocorrida ao nível da água consumida, como pelo maior decréscimo do consumo de água relativamente ao decréscimo do crescimento. Assim sendo, um dos aspectos mais importantes para selecção em relação à seca será o de procurar diferenças genótípicas em relação ao melhor equilíbrio entre as reduções das perdas de água e as reduções do crescimento.

O aumento da WUE deveu-se fundamentalmente a um maior decréscimo no

consumo de água do que na produção de biomassa, tendo-se verificado no entanto diferenças entre as cvs. O aumento da WUE na cv. 57-422, em condições de seca, deveu-se a fortes decréscimos da biomassa associadas a ainda fortíssimas restrições no consumo de água, enquanto que na cv. GC 8-35 tal aumento resultou de forte redução no consumo de água, tendo-se mantido estatisticamente inalterada a produção de biomassa. A cv. 73-30 praticamente mantém os níveis de biomassa e de consumo de água, daí a pequena variação da WUE.

Numa agricultura de sequeiro, em que a seca é intermitente, o comportamento da cvs. 57-422 é interessante, na medida em que podem utilizar toda a água disponível de forma eficiente. Quando há água em abundância, ela privilegia a produção de elevada quantidade de biomassa, mesmo que isto signifique elevados consumos de água. Quando a água escasseia, aumenta a WUE, através de restrições drásticas no consumo de água.

4.5 CONCLUSÕES

A cv. 57-422 apresentou, em condições de boa disponibilidade hídrica, as maiores taxas de crescimento e produções de matéria seca. As maiores taxas de crescimento encontram explicações nos factores de capacidade (área foliar e razão de área foliar altos) e nos factores de eficiência (maior NAR). As maiores produções de matéria seca podem ser explicadas pelos maiores valores de RGR e de LAD. Nestas condições hídricas, as maiores produções de vagem verificaram-se nas cvs. 57-422 e GC 8-35.

A seca provocou decréscimos significativos de RGR, LAD e TDM apenas na cv. 57-422. Por sua vez, o decréscimo na produção de vagens foi significativo nas cvs. 57-422 e GC 8-35. A cv. GC 8-35 apresentou uma maior eficiência na canalização da biomassa para o produto útil, tanto em condições de boa disponibilidade hídrica, como em condições

de seca.

A seca provocou um aumento na razão raiz/parte aérea. Na cv. 57-422, a razão raiz/parte aérea aumentou, não porque a biomassa radicular tenha sofrido forte incremento, mas essencialmente pelo facto de a parte aérea ter sofrido grande redução; na 73-30 tal é devido a um fortíssimo aumento da biomassa radicular e forte decréscimo da parte aérea, enquanto que a GC 8-35 consegue-o aumentado significativamente a sua biomassa radicular e alterando relativamente pouco a sua parte aérea.

De uma forma geral, o decréscimo da parte aérea deveu-se essencialmente mais ao decréscimo da biomassa foliar, do que da biomassa caulinar, facto muito evidente na cv. 57-422. Assim sendo, a cv. GC 8-35 parece ser a que apresentou o melhor ajuste da “razão raiz/parte aérea, pois aumentou a capacidade de absorver água sem que contudo tenha prejudicado de forma substancial as dimensões do aparelho assimilador.

A seca aumentou a WUE de todas as cvs., tendo os aumentos sido significativos apenas nas cvs. 57-422 e GC 8-35. Tal aumento da WUE deveu-se fundamentalmente a um maior decréscimo no consumo de água do que na produção de biomassa, tendo-se verificado no entanto diferenças entre as cvs. No caso da 57-42, o aumento fez-se à custa, de uma drástica redução do consumo de água e significativos decréscimos na acumulação de matéria seca, enquanto que na cv. GC 8-35, o melhor ajuste da razão raiz/parte aérea, ter-lhe-á permitido uma melhor extracção de água do substrato não comprometendo de forma significativa as dimensões do seu aparelho assimilador e a produção de biomassa total. A cv. 73-30 praticamente mantém os níveis de biomassa e de consumo de água, daí a pequena variação da WUE.

4.6 BIBLIOGRAFIA

- Ahamadi N. & Puard M. 1984. Comportements hydriques de deux types variétaux de riz à l'égard des potentials décroissants de l'eau dans le milieu nutritif. *L'Agron. Trop.*, 39: 236-242.
- Annerose D.J.M. 1990. Recherches sur les mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse. Application au cas de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivée au Sénégal. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles. pp 282. Paris VII Université, Paris, France.
- Bansal K.C., Uprety D.C. & Arbol Y.P. 1993. Genetic variation in photosynthetic characteristics in wheat: causes and consequences. In *Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P. Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 528-545. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, England.
- Barneix A.J. 1990. Yield variation in wheat: nitrogen accumulation, light interception and harvest index. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers, M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 87-100. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.
- Bethenod O., Lhomme J.-P., Katerji N., Quetin P. & Bertolini J.-M. 1991. Efficience de l'eau d'une culture de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. cv. Bintje). 2. Application à un modèle de calcul d'assimilation nette du couvert végétal. *Photosynthetica* 25: 545-559.
- Bradford K.J. & Hsiao T.E. 1982. Physiological response to moderate water stress. In

Physiological Plant Ecology. II. Water Relations and Carbon Assimilation, Encyclopedia of Plant Physiol., Vol. 12B (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond e H. Ziegler, eds.), pp. 263-324. Springer Verlag, New York, USA.

Ceulemans R.J. 1990. Genetic variation in functional and structural productivity components in *Populus*. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers., M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 69-85. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Creelman R.A., Mason H.S., Bensen R.J., Boyer J.S. & Mullet J.E. 1990. Water deficit and abscisic acid causes differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedling. Analyse of growth, sugar accumulation, and gene expression. *Plant Physiol.* 92: 204-214.

Davies W.J, Metcalfe J., Lodge T.A. & da Costa A.R. 1986. Plant growth substances and the regulation of growth under drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 105-125.

Ehadie B. & Waines J.G. 1993. Variation in water-use efficiency and its components in wheat: I. well-watered pot experiment. *Crop Sci.* 33: 294-299.

Guinn G., Dunlap J.R. & Brummett D.L. 1990. Influence of water deficit on abscisic acid and indol-3-acetic acid contents of cotton flowers bud and flowers. *Plant Physiol.* 93: 1117-1120.

Hoogenboom G., Huck M.G., Peterson, C.M. 1987a. Root growth rate of soybean as



affected by drought stress. *Agron. J.* 79: 607-614.

Hoogenboom G., Peterson C.M. & Huck M.G. 1987b. Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79: 607-614.

Hsiao T.C. & Bradford K.J. 1983. Physiological consequences of cellular water deficit. In *Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e R.T. Sinclair, eds.), pp. 215-225. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Wisconsin, USA.

Hubick K.T., Farquar G.D. & Shorter R. 1986. Correlation between water-use efficiency and carbon isotope discrimination in diverse peanut (*Arachis*) germoplasm. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 803-16.

Huck M.G., Peterson C.M., Hoogenboom G. & Busch C.D. 1986. Distribution of dry matter between shoot and root of irrigated and nonirrigated determinate soybeans. *Agron. J.* 78: 807-813.

Hudak C.M. & Patterson R.P. 1995. Vegetative growth analysis of a drought-resistant soybean plant introduction. *Crop Sci.* 35: 464-471.

Khalfaoui J.L.B. & Annerose D. 1986. Création variétale d'arachide adaptée aux contraintes pluviométriques des zones semi-arides. In *Proceedings of an International Symposium* (ICRISAT, ed.), pp. 127-134. Niamey.

- Konings H. 1990. Physiological and morphological differences between plants with high NAR or high LAR as related to environmental conditions. *In Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers., M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 101-123. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.
- Kvet J., Ondok J.P., Necas J. & Jarvis P.G. 1971. Methods of growth analysis. *In Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods* (Z. Sesták, J. Catský & P.G. Jarvis, eds.), pp. 343-391. Dr. W. Junk Publ., The Hague.
- Larcher W. 1995. *Physiological plant ecology* (2^a ed). Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Lawlor D.W. 1995. Photosynthesis, productivity and environment. *J. Exp. Bot.* 46: 1449-1461.
- Markhart III A.A., Ficus E.L., Naylor A.W. & Kramer P.J. 1979. Effect of abscisic acid on root hydraulic conductivity. *Plant Physiol.* 94: 1614-1624.
- McCree K.J. & Fernandez C.J. 1989. Simulation model for studying physiological water stress response of whole plants. *Crop Sci.* 29: 353-360.
- Medrano H. & Vadell J. 1993. Photosynthesis improvement as a way to increase crop yield. *In Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P. Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 572-582. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, England.

- Miller T.E., Wing J.S. & Huete R.A. 1984. The agricultural potential of selected C₄ plants in arid environments. *J. of Arid Environments* 7: 275-286.
- Morgan W.P., He C.-J., de Greef J.A. & de Proft M.P. 1990. Does water deficit stress promote ethylene synthesis by intact plant? *Plant Physiol.* 94: 1614-1624.
- Nagarajah S. & Schulze E.-D. 1983. Response of *Vigna unguiculata* (L.) Walp to atmospheric and soil drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 385-394.
- Pandey R.K., Herrera W.A.T. & Villegas A.N. 1983. Drought response of grain legumes under irrigation gradient. III. Plant growth. *Agron. J.* 76: 557-560.
- Pooter H. 1990. Interspecific variation in relative growth rate: on ecological causes and physiological consequences. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers., M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 45-68. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.
- Read J.J., Johnson D.A., Asay H.K. & Tieszen L.L. 1991. Carbon isotope discrimination, gas exchange, and water-use efficiency in crested wheatgrass clones. *Crop Sci.* 31: 1203-1208.
- Rodrigues M.L., Pacheco C.M.A. & Chaves M.M. 1995. Soil-water plant relations, root distribution and biomass partitioning in *Lupinus albus* L. under drought conditions. *J. Exp. Bot.* 46: 947-956.

Saab I.N., Sharp E.R., Pritchard J. & Voetberg G.S. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. *Plant Physiol.* 83: 33-38.

Saab I.N., Sharp E.R., Pritchard J. & Voetberg G.S. 1990. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedling at low water potentials. *Plant Physiol.* 93. 1329-1336.

Sawada S. & Sugai M. 1984. Response of transpiration and CO₂ exchange characteristics to soil moisture stress in four *Plantago* species and two grain sorghum genotypes in adaptation to drought stress. II Root water uptake and water use. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 627-636.

Schopfer P. & Plachy C. 1985. Control of seed germination by abscisic-acid. III. Effect on embryo growth potential (minimum turgor pressure) and growth coefficient (cell wall extensibility) in *Brassica napus* L. *Plant Physiol.* 77: 676-686.

Teixeira A.R.N & Ricardo C.P.P. 1983 Fotossíntese (1ª edição). Didáctica Editora, Lisboa, Portugal.

Wright G.C., Nageswara Rao R.C. & Farquar G.D. 1994. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in peanut under water deficit conditions. *Crop Sci.* 34: 92-97.

CAPÍTULO 5

EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NAS TROCAS GASOSAS

5.1 INTRODUÇÃO

A fotossíntese é não só um indicador de produtividade como também um indicador de “stress”, na medida em que tem a particularidade de ser, por um lado, um processo de que depende em última instância a produtividade vegetal e, por outro, um dos mais sensíveis aos vários tipos de “stress”, como sejam: o térmico (Öquist 1983, Woolhouse 1983), o luminoso (Ramalho 1998), o nutricional (Lidon 1993) e o hídrico (Campos 1998).

No caso do “stress” hídrico, desde há muito que se sabe que os seus efeitos se fazem sentir através do decréscimo da condutância estomática e, conseqüentemente, da diminuição da difusão do CO₂ para os locais de carboxilação. A constatação de que a condutância estomática e a fotossíntese líquida variavam de forma mais ou menos paralela

no início do processo de desidratação, para depois a fotossíntese líquida sofrer uma redução superior à da condutância estomática, chamou à atenção para a possibilidade de as limitações decorrentes do decréscimo da absorção do CO₂ poderem não ser os únicos responsáveis pela queda da fotossíntese em condições de seca.

Com efeito, o decréscimo da condutância estomática, em muitos casos, não evita a desidratação severa, a qual tem como consequências o exacerbar de certos processos fisiológico tais como: “stress” oxidativo (Jones 1992, Lawlor e Uprety 1993, Lawlor 1995), peroxidação dos lípidos (Lawlor 1995, Campop 1998), proteólise (Aspinall e Paleg 1981, Hanson 1983, Zuily-Fodil *et al.* 1990, Chaves 1991), acidificação do estroma (Kaiser 1987_a, Kaiser 1987_b, Lawlor 1995), aumento da concentração de solutos (Kaiser 1987_a; Kaiser 1987_b, Quick *et al.* 1992) e dissociação dos complexos lipo-proteicos (Bacall e García 1981, Poljakoff-Mayber 1983, Urquiza *et al.* 1988). Estas alterações têm efeitos negativos no funcionamento celular e da maquinaria fotossintética, em particular, factos de que são reflexos os decréscimos da capacidade fotossintética e da eficiência quântica verificados frequentemente nestas condições hídricas. De modo que actualmente é ponto assente que a fotossíntese decresce, em condições de seca, devido tanto a efeitos estomáticos como a efeitos não-estomáticos, dependendo a importância relativa de cada um deles da severidade da desidratação.

Da maior ou menor estabilidade das trocas gasosas dependem a sobrevivência e a produtividade das plantas em condições de seca, sendo aquela um bom indicador do grau de afectação do metabolismo por este “stress” ambiental. Acontece também que os génotipos diferem em relação a este aspecto, podendo tais diferenças, uma vez detectadas, apoiar o desenvolvimentos dos trabalhos de melhoramento. Assim sendo, neste capítulo, é

nosso objectivo pesquisar diferenças genotípicas, ao nível da taxa de fotossíntese líquida e da capacidade fotossintética, tanto em condições de elevada hidratação como em condições de seca.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Condições gerais de crescimento e determinação do teor hídrico relativo

As condições gerais de crescimento e a determinação do teor hídrico relativo (RWC) já foram descritos nos Capítulos 2 e 3, respectivamente.

5.2.2 Determinação da condutância estomática, taxas de transpiração e fotossíntese líquida e da eficiência instantânea do uso da água

A determinação da condutância estomática (g_s), taxas de transpiração (T_r) e fotossíntese líquida (P_n) foi feita conforme o descrito no Capítulo 2. A eficiência instantânea do uso da água (WUE_I) foi calculada pela razão entre P_n e T_r .

5.2.3 Determinação da capacidade fotossintética

A capacidade fotossintética (A_{max}) foi determinada conforme o descrito no Capítulo 2.

5.3. RESULTADOS

5.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre a condutância estomática e taxas de transpiração e fotossíntese líquida

A resposta das cvs. de amendoim ao “stress” hídrico foi caracterizada por um

decréscimo na g_s , T_r e P_n , tendo-se contudo notado algumas diferenças entre elas, relativamente à forma como tal alteração se processou.

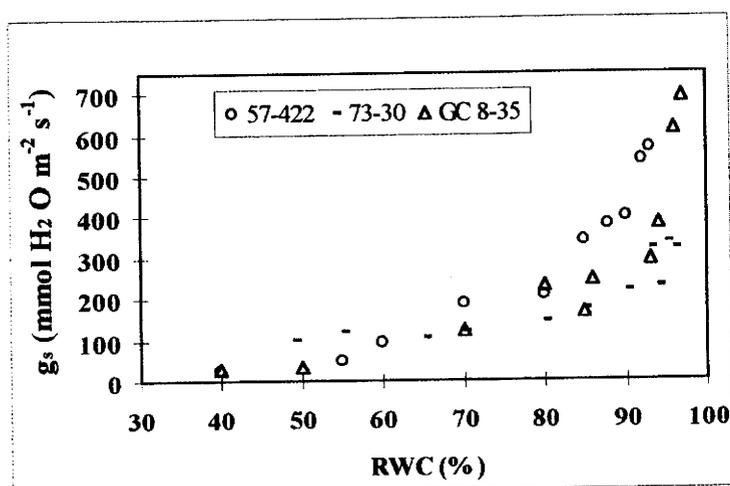


Fig. 5.1 Variação da condutância estomática (g_s) ao longo de valores decrescentes do teor hídrico relativo foliar (RWC). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$).

Em condições de elevada hidratação, verificou-se que g_s era mais elevada nas cvs. 57-422 e CG-8-35 e bem mais baixa na 73-30. Com a redução do RWC, observou-se, na cv. GC 8-35, um decréscimo abrupto de g_s , de maneira que para valores de RWC entre 90 e 70%, esta cv. apresentou valores de g_s iguais ao da cv. 73-30 (Fig. 5.1). Pode observar-se também que na cv. 57-422 g_s baixou mais gradualmente e tem, no intervalo considerado, os valores mais elevados. A cv. 73-30, caracterizou-se por baixos valores de g_s , em condições de boa hidratação, e pequenos decréscimos deste parâmetro à medida que o RWC decrescia. É de notar também que em relação a esta cv., os estomas mantiveram ainda uma condutância razoável para valores de RWC abaixo dos 60%, o que não aconteceu com as outras duas, em que g_s tomou valores mais baixos (Fig. 5.1).

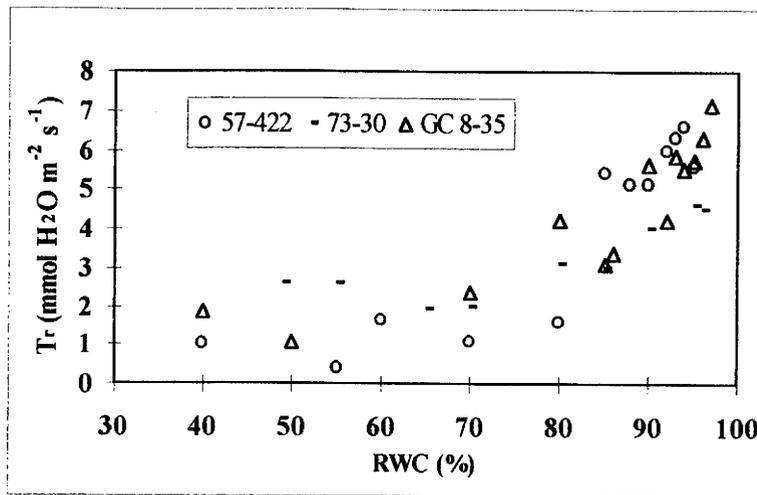


Fig. 5.2 Variação da transpiração (T_r) ao longo de valores decrescentes do teor hídrico relativo foliar (RWC). Cada valor representa a média \pm SE (n=5).

Em todas as cvs., verificou-se que tanto a T_r como a P_n decresceram, de modo similar, à medida que o RWC decresceu (Figs. 5.2 e 5.3). Em relação a T_r (Fig. 5.2), verificou-se uma tendência muito similar à do efeito do decréscimo do RWC sobre a g_s (Fig. 5.1). Quanto à P_n (Fig. 5.3), verificou-se que, em condições de elevada hidratação, as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram os valores mais elevados.

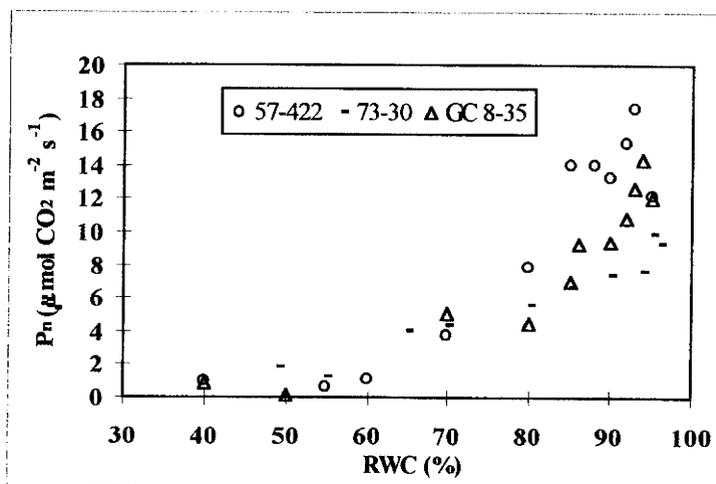


Fig. 5.3 Variação da taxa de fotossíntese líquida (P_n) ao longo de valores decrescentes do teor hídrico relativo foliar (RWC). Cada valor representa a média \pm SE (n=5).

Quando o RWC desceu a valores próximos dos 85%, os maiores decréscimos verificaram-se nas cvs. 57-422 e GC 8-35, as quais apesar de tudo, principalmente a primeira, apresentaram valores de P_n mais elevados do que a 73-30. A cv. 73-30, a partir de certa altura iguala as outras duas e suplanta-as mesmo, como se verificou para valores do RWC inferiores a 70%.

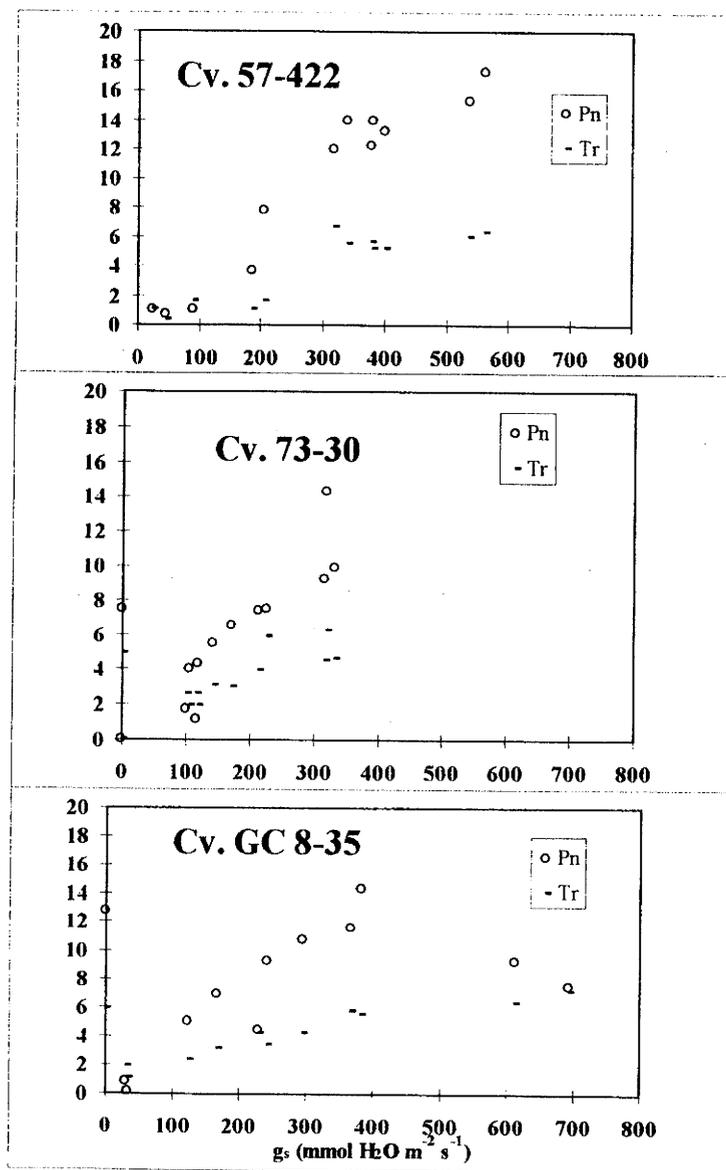


Fig. 5.4 Variação conjunta das taxas de fotossíntese líquida (P_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e de transpiração (T_r , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) ao longo de valores decrescentes da condutância estomática (g_s). Cada valor representa a média \pm SE (n=5).

Portanto, os resultados obtidos mostraram que em condições de elevada hidratação, as cvs. GC 8-35 e a 57-422 apresentaram os valores mais elevados de g_s , T_r e P_n e os maiores decréscimos destes parâmetros em condições de seca. A cv. 73-30, pelo contrário, caracterizou-se por valores mais baixos, em condições hídricas favoráveis, e no geral uma maior estabilidade quando o RWC descia. A P_n e a T_r evoluíram de modo similar ao longo de valores decrescentes da condutância estomática (Fig. 5.4).

5.3.2 Efeito do “stress” hídrico sobre a capacidade fotossintética

Relativamente à A_{max} (Fig. 5.5), verificou-se que as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram, em condições de elevada hidratação, os maiores valores.

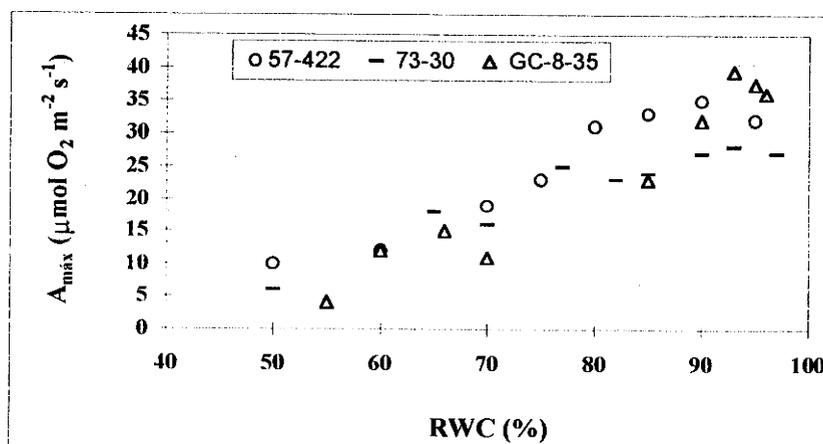


Fig. 5.5 Variação da capacidade fotossintética (A_{max}) ao longo de valores decrescentes do teor hídrico relativo foliar (RWC). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$).

Em relação à estabilidade da A_{max} em condições de seca, verificou-se que na cv. GC 8-35 o seu decréscimo já se observava a valores de RWC ainda elevados. Nas outras duas cvs., A_{max} decresceu mais tarde. Em todas as cvs., exceção feita à cv. GC 8-35 em que tal não é muito nítido, P_n começou a decrescer mais cedo que a A_{max} (Figs. 5.3 e 5.5).

5.3.3 Efeito do “stress” hídrico sobre a eficiência instantânea do uso da água

Nas cvs. 57-422 e GC 8-35, o óptimo da WUE_i , não ocorreu em condições de máxima de hidratação, mas sim em condições de seca moderada. Na cv. 73-30, os valores mantêm-se até um RWC à volta dos 70%, acompanhando a descida das outras duas cvs. para valores de RWC mais baixos (Fig. 5.7).

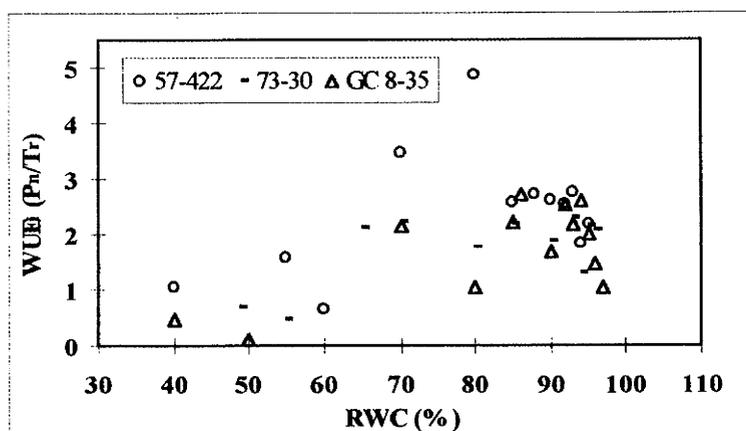


Fig. 5.7 Variação da eficiência instantânea do uso da água (WUE_i , P_n/T_r) ao longo de valores decrescentes do teor hídrico relativo foliar (RWC). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$).

5.4 DISCUSSÃO

A seca tem efeitos deletérios sobre as plantas e por isso elas apresentam várias estratégias para conservar a água, facto importante principalmente quando ela não abunda. Um dos aspectos mais importantes desta estratégia consiste na diminuição das perdas de água. Os estomas, apesar da sua pequena área em relação à área total da folha, dados os aspectos ligados às suas particularidades morfológicas e às próprias leis da difusão do vapor de água, constituem a principal via através da qual se processam as perdas de água das plantas para a atmosfera e, por via disto, o encerramento estomático é o principal mecanismo de redução da transpiração e da estratégia do "drought avoidance".

Por isso mesmo, como se verificou neste trabalho, principalmente nas cvs. GC 8-35 e 57-422, e como já tem sido referido por outros autores (Lakso 1979, Fisher *et al.* 1981, Carter e Sheaffer 1982, Urquiza *et al.* 1987, Wilmer 1988), a redução do estado de hidratação das plantas foi acompanhada, em primeiro lugar, por uma diminuição da condutância estomática. Por outro lado, como também já tem sido referido (Frank 1973, Srinivasa e Bhatt 1988), verificou-se neste trabalho que a transpiração e a fotossíntese líquida evoluíram de forma semelhante com a redução do RWC, o que mostra que o fecho dos estomas controla, de certo modo, os dois processos, o que se percebe, se atendermos ao facto de que a difusão do CO₂ e do vapor de água se realizam pela mesma via, os estomas, constatação que tem profundas implicações para a vida das plantas, principalmente em condições de seca, já que o fecho dos estomas constitui uma espada de dois gumes.

Com a diminuição da g_s , as plantas evitam a desidratação, mas por outro lado, prejudicam a fotossíntese e eventualmente a produção de biomassa. Isto porque ao fecharem os estomas como se verificou, ficam também privadas de absorverem, em quantidades adequadas, o CO₂. Adicionalmente, a diminuição da concentração do CO₂, cria condições para uma maior actividade oxigenásica da rubisco, o que se traduz num decréscimo adicional da fotossíntese líquida. Por outro lado, o fecho dos estomas levanta outro problema ao nível da regulação termo-fotónica, na medida em que as plantas com os estomas fechados não transpiram e portanto não beneficiam do efeito refrescante da transpiração, facto de que resulta um sobre-aquecimento da folha com implicações negativas na fotossíntese. Também, com o fecho dos estomas criam-se condições de excesso de energia, no interior dos cloroplastos, já que o fluxo carboxilativo não acompanha o fluxo fotónico, das quais resultam uma série de eventos com influências

negativas para a fotossíntese. Daí que, mais do que centrar a análise no fecho dos estomas em si, numa perspectiva apenas de conservação da água, interessará sobretudo fazer esta análise na óptica do equilíbrio entre os dois processos (transpiração e fotossíntese), no âmbito de um estratégia global que associe de forma integrada a disponibilidades hídrica, as características das plantas e as condições agro-ecológicas em que elas se desenvolvem.

Nesta óptica, os resultados obtidos permitem-nos distinguir basicamente duas estratégias diferentes. Primeiro, a das cvs. 57-422 e GC 8-35 em que as plantas apresentam valores muito elevados de P_n quando há água disponível e fortes reduções deste parâmetro a partir do momento em que ela começa a escassear. Esta pode ser uma boa estratégia quando se pretende seleccionar no sentido de aumentar a resistência nos condicionalismos agro-ecológicos caracterizados por secas imprevisíveis e de curta duração (como por exemplo pode acontecer na agricultura de sequeiro em Angola), pois, por um lado, quando a precipitação é adequada, não permite que se sacrifique o potencial produtivo das plantas (mesmo que isto se faça a expensas de um maior consumo de água), e, por outro, permite protegê-las, embora reduzindo a actividade fotossintética, quando as condições hídricas não são as mais favoráveis.

A cv 73-30 caracteriza-se por baixos valores de g_s e de P_n mesmo em condições de boa disponibilidade hídrica e decréscimos suaves destes parâmetros ao longo do ciclo de desidratação. Atendendo ao que foi dito anteriormente, tal comportamento estomático abre-lhe boas perspectivas de sobrevivência e de produção nos condicionalismos em que existe o risco de ocorrência de seca na parte final do ciclo cultural. Nestas circunstâncias, uma certa parcimónia no consumo de água é necessária, logo no início da campanha agrícola, mesmo que isto se faça à custo do sacrifício do potencial produtivo em condições

de disponibilidade de água. As maiores condutâncias e taxas transpiratórias verificadas nesta cv. em condições de seca severa (RWC inferior a 60%) podem estar associadas aos altos valores da condutância cuticular (Ver capítulo 3).

Convém realçar também o facto de que, em condições de desidratação moderada (RWC \pm 85%), as cvs. 57-422 (principalmente esta) e GC 8-35 apresentaram, apesar dos fortes decréscimos, as mais elevadas taxas de P_n , o que se compreende dado apresentarem à partida valores mais altos do que a cv. 73-30. Isto pode ser importante na hora de eleger os genótipos mais produtivos em condições de seca moderada. Para situações de desidratação mais fortes, a importância de se preferir uma cultura como a 73-30, reside precisamente no facto de o seu processo fotossintético se ter revelado relativamente mais estável, parecendo que o decréscimo gradual da sua actividade metabólica lhe confere uma certa aclimação. Apesar de esta análise se centrar apenas nos efeitos estomáticos, não quer dizer que os factores associados à resistência do mesófilo (efeitos não-estomáticos) não tenham influência no decréscimo de P_n em condições de seca.

O papel de g_s e da resistência do mesófilo na fotossíntese têm sido amplamente discutidos (Drake e Raschke K. 1974, von Caemmerer e Farquhar 1981, Gupta e Berkowitz 1987, Kaiser 1987b, Quick *et al.* 1992). Inicialmente, pensava-se que o decréscimo de g_s seria o principal responsável pelo decréscimo da P_n , observado em condições de seca. Contudo, graças ao desenvolvimento dos eléctrodos de oxigénio foi possível constatar que alterações na resistência do mesófilo podem também ter influência preponderante na diminuição de P_n em condições de seca.

O facto de, neste trabalho, a $A_{m\acute{a}x}$ ter sido significativamente afectada em todas as cvs. estudadas, está de acordo com o que a este respeito se tem dito (Tenhunen *et*

al. 1987, Robinson 1988, Lawlor e Uprety 1993, Pearcy 1994) e constitui uma indicação de que, além da componente física correspondente aos efeitos estomáticos, a assimilação do CO_2 foi também afectada por alterações ao nível do mesófilo.

Apesar desta constatação, é geralmente aceite que a maquinaria fotossintética é particularmente resistente à seca, sendo apenas afectada a valores de RWC inferiores a 70% (Kaiser 1987a, Kaiser 1987b, Cornic 1987), o que não se passa com as nossas cvs., em que A_{max} foi afectada a valores de RWC mais elevados, como foi referido noutras espécies (Pearcy 1983, Krieg 1983, Matos 1990, Chaves 1991, Quick *et al.* 1992). Portanto, os dados evidenciam, como já foi dito, que a P_n decresceu devido a efeitos estomáticos e não-estomáticos, sendo a importância relativa de cada um deles, como se verá, dependente da severidade da seca.

Com efeito, como já foi referido, excepção feita à cv. GC 8-35 em que tal não é muito nítido, a P_n começou a decrescer mais cedo que a A_{max} . De facto como tem sido referido (Wong *et al.* 1979, Farquhar e Sharkey 1982, Gupta e Berkowetz 1987), no início da desidratação a fotossíntese é exclusivamente limitada pelo fecho dos estomas. Mas depois, a partir de um certo limiar, o metabolismo das células do mesófilo é directamente afectado pela seca e os efeitos não-estomáticos tornam-se mais importantes.

Um dos grandes paradoxos do mundo vegetal prende-se com o facto de a água ser de extrema importância para as plantas e por outro o facto de a maior parte da água absorvida passar por elas e perder-se para a atmosfera sem que aparentemente tenha realizado algo de útil. Dado que as vias de saída da água e entrada de CO_2 são as mesmas, a transpiração é inevitável. O equilíbrio entre os dois processos, de que o comportamento estomático é o principal responsável, constitui um dos aspectos mais apaixonantes da

evolução das plantas em terra firme e muito principalmente da sua sobrevivência nos vários condicionalismos em que a seca ocorre. Portanto, as plantas para se defenderem da seca não podem exclusivamente fechar os estomas, pelo menos a longo prazo, a maximização da eficiência com que utilizam a água constitui uma excelente alternativa.

Tal objectivo é atingido em condições de seca moderada, como se verificou neste trabalho, com maior nitidez em relação à cv. 57-422, pois, segundo Sawada e Sugai (1984) e Fitter e Hay (1989), como para o CO_2 existe uma resistência adicional, o fecho parcial dos estomas, afectando mais a T_r do que a P_n , aumenta a WUE_i (Smishi 1963, Frederick *et al.* 1989, Jones 1992). Com o acentuar da desidratação, devido à afectação da própria maquinaria fotossintética, o que se verifica é que P_n baixa muito mais que T_r e g_s , facto que se traduz numa diminuição da WUE_i , como de resto se verificou neste trabalho e tem sido referido por vários autores (Fisher e Turner 1978, Davies e Pereira 1992). Também se pode invocar aqui, como causa desse decréscimo o maior protagonismo da transpiração cuticular relativamente à transpiração estomática, sem a conveniente compensação na absorção de CO_2 ou ainda o facto de apesar de g_s ter diminuído, Δ_e ser de tal forma elevado ao ponto de provocar uma taxa transpiratória adicional não associada à fotossíntese.

A explicação para os baixos valores de WUE_i observados neste trabalho, em condições de boa disponibilidade hídrica, podem basear-se no facto de nestas condições poder ocorrer uma transpiração não associada à fotossíntese. Com efeito, segundo alguns autores (Kriedemann e Downton 1981, Loomis 1983), g_s está relacionada com T_r mais ou menos linearmente, enquanto que com P_n a relação é assintótica, o que possibilita também nestas condições hídricas a ocorrência de uma transpiração não associada à fotossíntese e comandada apenas pelo Δ_e .

5.5 CONCLUSÕES

A P_n decresceu quer devido a efeitos estomáticos quer a não-estomáticos, sendo a importância relativa de cada um deles dependente da severidade da seca. De uma forma geral (no caso da cv. GC 8-35 isto não é bem nítido), a P_n começou a decrescer mais cedo que a A_{max} , o que mostra a maior importância da componente estomática no início da desidratação.

Em relação aos efeitos estomáticos, as cvs. apresentaram duas estratégias diferentes. Em primeiro lugar, a protagonizada pelas cvs. GC 8-35 e 57-422, caracterizada por elevados valores de g_s e de P_n em condições de plena disponibilidade hídrica, por um lado, e acentuados decréscimos destes parâmetros em condições de seca por outro. Ainda assim, estas cvs. apresentaram, em condições de seca moderada, taxas transpiratórias e fotossintéticas mais elevadas do que as exibidas pela cv. 73-30. Esta cv. caracterizou-se por apresentar, logo à partida, as mais baixas taxas, por um lado, e os menores decréscimos por outro, estabilidade que lhe permite em alguns casos suplantar as outras cvs..

O facto de, neste trabalho, $A_{máx}$ ter sido significativamente afectada em todas as cvs. estudadas constitui uma indicação de que, além da componente física correspondente aos efeitos estomáticos, a assimilação do CO_2 foi também afectada por alterações ao nível do mesófilo. Condições de seca moderada aumentaram a WUE_i e isto foi mais nítido na cv. 57-422, enquanto que condições de seca severa conduziram a um decréscimo deste parâmetro, principalmente nas cvs. 73-30 e GC 8-35.

5.6 BIBLIOGRAFIA

Aspinal D. & Paleg L.G. 1981. Proline accumulation: physiological aspects. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinal, eds.), pp. 206-240. Academic Press Australia, Australia.

Bacall E.V. & García S.T. 1981. *Fisiologia Vegetal*. Editorial Pueblo y Educacion. Playa, Ciudad de La Habana. Cuba.

Campos P.S.. 1998 Effects of water stress on photosynthetic performance and membrane integrity in *Vigna spp.* Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia e Bioquímica). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Carter P.R. & Sheaffer C.C. 1982. Alfalfa response to soil water deficit. II Plant water potential, leaf conductance, and canopy temperature relationships. *Crop Sci.* 23: 676-680.

Cornic G. 1987. Interaction between sublethal pollution by sulphur dioxide and drought stress. The effect on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 115-119.

Chaves M.M. 1991. Effects of water deficit on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* 42: 1-16.

Davies W.J. & Pereira J.S. 1992. Plant growth and water use efficiency. *In Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants* (N.R. Baker e H. Thomas, eds.), pp. 213-233. Elsevier Science Publishers, B.V.

Drake B. & Raschke K. 1974. Prechiling of *Xanthium strumarium* L. reduces net photosynthesis and independently of stomatal conductance while sensitising stomata to CO₂. *Plant Physiol.* 53: 808-812.

Farquhar G.D. & Sharkey T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.

Fisher R.A. & Turner N.C. 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 277-317.

Fisher M.J., Charles-Edward D.A. & Ludlow M.M. 1981. An analysis of the effects of repeated shorter soil water deficit on stomatal conductance to carbon dioxide and leaf photosynthesis by legume *Macroptilium atropurpureum* cv. sirato. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 347-357.

Fitter A.H. & Hay R.K. M. 1989. Environmental physiology of plants. Second edition. Academic Press, London, England.

Frank A.B., Power J.F. & Willis W.O. 1973. Effects of temperature and plant water stress on photosynthesis, diffusion resistance, and leaf water potential in spring wheat. *Agronomy. J.* 65: 777-780.

Frederick J.R., Alm D.M. & Hesketh J.D. 1989. Leaf photosynthesis rates, stomatal

resistance and internal CO₂ concentrations of soybean cultivars under drought stress. *Photosynthetica* 23: 575-584.

Gupta A.S. & Berkowitz G.A. 1987. Osmotic adjustment, symplast volume, and nonstomatal mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.* 85: 1040-1047.

Hanson A.D. 1983. Whole-Plant response to water deficits: water deficit and nitrogen economy. In *Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W.

Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 331-340. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Jones H.G. 1992. Plant and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology. Pp. 264-293. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge, England.

Kaiser W.M. 1987a. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.

Kaiser W.M. 1987b. Non-stomatal, primary dehydration effects on photosynthesis: possible mechanisms for reversible and irreversible damage. *Current Topics Plant Biochem. Physiol.* 6: 119-133.

Kriedemann P.E., Downton J.S. 1981. Photosynthesis. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 283-314. Academic Press Australia, Sydney, Australia.

Krieg D.R. 1983. Whole-plant response to water deficits: carbon assimilation and utilisation. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 277-287. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Lakso N.A. 1979. Seasonal Changes in stomatal response to leaf water potential in apple. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* 104: 58-60.

Lange O. L., Harley P. C., Beyschlag W. & Tenhunen J. D. 1987. Gas exchange methods for characterising the impact of stress on leaves. *In Plant Response to Stress*, Vol. G15 (J. D. Tenhunen *et al*, ed.), pp. 3-25. NATO ASI Series. Springer-verlag, Berlin, Germany Heidelberg.

Lawlor D.W. 1983. Integration of biochemical processes in the physiology of water stressed plants. *In Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e van Poucke M., eds.), pp. 35-44. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.

Lawlor D.W. & Khanna Chopra R. 1983. Regulation of photosynthesis during water stress. *In Advances in Photosynthesis Research* (Sybesma, ed.), pp 379-382. Nijhoff M. e Junk W.

Publishers, The Hague.

Lawlor D.W. & Upreti D.C. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crop and the biochemical mechanism. *In Photosynthesis: Photoreactions to Plant productivity* (Y.P. Arbol., P. Monthany e Govinjee eds.), pp. 421-445. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, The Netherland.

Lawlor D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. *In Environment and Plant Metabolism: flexibility and acclimation* (N. Smirnoff, ed.), pp. 129-160. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, England.

Loomis R. S. 1983. Crop manipulation to efficient water use. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 345-371. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Matos M.C. 1990. Economia da água da macieira. Aspectos fisiológicos e aplicação ao controlo da rega. Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia Vegetal). Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Mansfield T.A. & Davies W.J. 1981. Stomata and stomatal mechanisms. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 315-344. Academic Press Australia, Sydney, Australia.

Öquist G. 1983. Low temperature effects on photosynthesis in conifers. *In Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e M. van Poucke, eds.), pp. 211-218. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.

Pearcy R.W. 1983. Physiological consequences of cellular water deficits: nonstomatal inhibition of photosynthesis by water stress. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e R.T. Sinclair, eds.), pp. 277-287. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Wisconsin, USA.

Pearcy R.W. & Sims D.A. 1994. Photosynthetic acclimation to changing light environments: scaling from the leaf to the whole plant. *In Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants* (Caldwell e Pearcy, eds.), pp. 145-174. Academic Press.

Poljakoff-Mayber A. 1983. Ultrastructural consequences of drought. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 389-401. Academic Press Australia, Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco.

Quick W.P., Chaves M.M., Wendler R., David M., Rodrigues M.L., Passarinho J.A., Pereira J.S., Adcock M.D., Leegood R.C. & Stitt M. 1992. The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant Cell Environ.* 15: 25-35.

Ramalho J.D.C. 1998. Nitrogen-dependent photoprotection mechanism against photoinhibition in *Coffe arabica* cv. Catuaí. PhD Thesis in Biology (Plant Physiology and Biochemistry). Faculty of Sciences from Lisbon University, Lisbon, Portugal.

Robinson S.P., Grant W.J.R. & Loveyes B.R. 1988. Stomatal limitation in abscisic acid-treated and in water-stressed leaves measured at elevated CO₂. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 495-503.

Sharkey T.D. & Badger M.R. 1982. Effect of water stress on photosynthetic electron transport, photophosphorylation, and metabolic levels of *Xanthium strumarium* mesophyll cells. *Planta* 156: 199-206.

Sharkey T.D. 1985. Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. *The Botan. Rev.* 51: 54-75.

Shimish D. 1963. Effect of soil moisture and phenylmercuric acetat upon stomatal aperture, transpiration and photosynthesis. *Plant Physiol.* 38: 713-721.

Srinivasa Rao N.K. & Bhatt R.M. 1988. Photosynthesis, transpiration, stomatal difusive resistance, and relative water content of *Capsicum* (Bell Pepper) grown under water stress. *Photosynthetica* 22 (3): 377-382.

Swada S. & Sugai M. 1984. Responses of transpiration and CO₂ exchanges characteristics

to soil moisture stress in four *Plantago* species. *Photosynthetica* 18: 34-42.

Tenhunen J.D., Beyschlag W., Lange O.L. & Harley P.C. 1987. Changes during summer drought in leaf CO₂ uptake rates of macchia shrubs growing in Portugal: Limitations due to photosynthetic capacity, carboxylation efficiency and stomatal conductance. *In Plant Response to Stress*, Vol. G15 (J. D. Tenhunen *et al*, ed.), pp. 305-327. NATO ASI Series. Springer-Verlag, Germany.

Urquiza R.A., Delgado E.O. & García R.R. 1988. Fisiología Vegetal. Editorial Pueblo y Educación. Playa, Ciudad de La Habana. Cuba.

von Caemmerer & Farquhar G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.

Vu J. C.V., Alen Jr. L.H. & Bowes G. 1987. Drought stress and elevated CO₂ effects on soybean ribulose biphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiol.* 83: 573-578.

Zuñild-Fodil Y., Vazquez-Tello A. & Vieira da Silva J. 1990. Effect of water deficit on cell permeability and on chloroplast integrity. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.* 137: 115-123.

Willmer C.M. 1988. Stomatal sensing of the environment. *Biol. J. Linnean Soc.* 34: 205-217.

Woolhouse H.W. 1983. The effects of stress on photosynthesis. *In Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e M. van Poucke., eds.), pp. 1-28. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.

CAPÍTULO 6

EFEITOS DO “STRESS” HÍDRICO NO TRANSPORTE DE ELECTRÕES E NA ACTIVIDADE CARBOXILATIVA DA RUBISCO

6.1 INTRODUÇÃO

Um dos fenómenos predominantes na agricultura de sequeiro, praticada nas zonas intertropicais, é a ocorrência de secas, as quais apresentando-se com características e impactos muito variados, têm, no entanto, como denominador comum um efeito negativo sobre a fotossíntese (Genty *et al.* 1987), processo do qual depende, como já se disse, em última instância, a produtividade vegetal (Lawlor 1995). A procura de uma maior estabilidade da fotossíntese em condições de “stress” hídrico tem sido, ao longo dos tempos, uma preocupação dos agricultores, fisiologistas e melhoradores. Apesar de disporem hoje de meios muito sofisticados para a compreensão de como o “stress” hídrico afecta a fotossíntese e da sensibilidade dos seus diferentes passos a este “stress” ambiental, tal não tem sido ainda completamente possível, pois infelizmente de acordo com Lawlor e

Upreti (1993), os conhecimentos sobre os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nas respostas das plantas ao deficit hídrico são ainda insuficientes para permitir uma intervenção adequada no mecanismo genético, no sentido de obter maiores e mais estáveis produções em condições de “stress” hídrico.

O “stress” hídrico, como é reconhecido por vários autores (Johnson *et al.* 1974, O’Toole *et al.* 1977, Kaiser 1987a, Stuhlfauth *et al.* 1990, Di Marco e Tricoli 1993, Jefferies 1994), causa problemas ao nível do metabolismo fotossintético, inibindo a carboxilação e o transporte de electrões. Contudo, face às diferenças dos genótipos estudados, do nível de “stress” hídrico e das condições de crescimento, têm sido obtidos alguns resultados aparentemente discordantes (Björkman e Powles 1984, Cornic *et al.* 1987, Kaiser 1987b, Di Marco *et al.* 1988, Joshi 1995). Este capítulo, tem como objectivo a caracterização das cvs. de amendoim em estudo, relativamente ao efeito do “stress” hídrico sobre alguns passos do processo fotossintético (tanto ao nível fotoquímico como bioquímico) e identificar possíveis pontos de estrangulamento.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca

As condições gerais em que as plantas se desenvolveram e a determinação do RWC já foram descritos no Capítulo 2 e 3, respectivamente. A seca foi imposta por suspensão da rega e as plantas submetidas a três tratamentos: controlo (C), seca moderada (S1) e seca severa (S2), com valores do RWC entre 95-90%, 85-70% e 65-55%, respectivamente.

6.2.2 Determinação da actividade da cadeia de transporte de electrões da fotossíntese

A preparação das fracções subcloroplásticas assim como a determinação da

actividade da cadeia de transporte de electrões da fotossíntese foi efectuada de acordo com o método descrito por Droppa *et al.* (1987), com algumas modificações (Lidon e Henriques 1992). A preparação das fracções subcloroplásticas foi realizada em duas fases, a primeira consistiu na lavagem das amostras (constituídas cada uma por 5 g de material foliar fresco) com água desionizada seguida de uma homogeneização (a 4°C) de cada amostra em 30 ml de uma solução tampão 50 mM MES (pH 6,4), contendo 0,4 M de sorbitol, 10 mM de NaCl, 5 mM de MgCl₂, 2 mM de EDTA, 1 mM de MnCl₂, 2 mM de ascorbato e 0,4% de BSA. O homogenato obtido foi filtrado em 4 camadas de gaze e centrifugado (200 x g, 4 min., 4°C). O sobrenadante foi então submetido a uma centrifugação (2000 x g, 4 min.), após o que se recolheu o depósito contendo os cloroplastos. Este depósito foi lavado com tampão de extracção e centrifugado (2000 x g, 4 min., 4°C).

Na segunda fase, os cloroplastos do depósito foram ressuspensos numa solução tampão 50 mM de HEPES (pH 7,5), contendo 0,4 M de sorbitol, 10 mM de NaCl, 5 mM de MgCl₂, 2 mM de EDTA, 1 mM de MnCl₂ e 0,4% de BSA.

Nestas fracções subcloroplásticas, foi determinada a velocidade das reacções H₂O-DCPIP (reacção de Hill acoplada ao PSII integrando o complexo de oxidação da água), DPC-DCPIP (reacção de Hill acoplada ao PSII não integrando o complexo de oxidação da água) e DCPIPH₂-MV (reacção de Mehler associada ao PSI), utilizando um eléctrodo de oxigénio (LW2, Hansaetch, Kings Lynn, U. K.). Para o caso da determinação da reacção H₂O-DCPIP foram utilizados 600 µl da suspensão de cloroplastos, 1 ml da solução A - solução tampão 50 mM HESPE (pH 7,5), contendo 0,1 M de sorbitol, 4 mM de MgCl₂, 20 mM de Na Cl, 10 mM de K₂HPO₄ - e 20 µl de DCPIP 1 mM, completando-se o volume para 2 ml com água desionizada.

Para a determinação da velocidade da reacção DPC-DCPIP utilizaram-se 600 µl da suspensão de cloroplastos, 1 ml da solução A, 50 µl de DCPIP 1 mM e 50 µl de DPC 100 mM, tendo-se completado o volume para 2 ml com água desionizada. A determinação da velocidade da reacção DCPIPH₂-MV foi feita juntando aos 600 µl da suspensão de cloroplastos, 1 ml da solução A, 20 µl de DCMU 250 µM, 20 µl de ascorbato 1 mM, 20 µl de DCPIP 1 mM e 40 µl de MV 10 mM. Em todas as determinações utilizou-se uma fonte luminosa de aproximadamente 4000 µmol m⁻² s⁻¹, obtida a partir de uma lâmpada de Björkman (Hansatech).

6.2.3 Determinação da concentração dos citocromos *b_{559HP}*, *b₅₆₃*, *b_{559LP}* e *f*

As preparações cloroplásticas para a determinação dos citocromos (cits) foram obtidas de acordo com o método de Spiller e Terry (1980). As folhas (5 g) foram lavadas com água desionizada e rapidamente homogeneizadas em 30 ml de uma solução tampão 20 mM Tricina-KOH (pH 8,0), contendo 0,4 M de sacarose, 10 mM de NaCl e 30 mM de ascorbato de sódio. Após filtração com 4 camadas de gaze e centrifugação (2000 x g, 5 min., 4°C), o sobrenadante foi recolhido e novamente centrifugado (10000 x g, 5 min., 4°C). O depósito obtido foi ressuspensão em 25 ml de uma solução tampão 20 mM Tricina-KOH (pH 8,0), contendo 10 mM de NaCl e 30 mM de ascorbato de sódio e centrifugado (10000 x g, 10 min., 4°C). O depósito obtido foi então ressuspensão numa solução tampão 20 mM de Tricina-KOH (pH 8,0), contendo 10 mM de NaCl e centrifugado (10000 x g, 10 min., 4°C) para remover o ascorbato de sódio. O depósito assim obtido foi ressuspensão em 40 ml de HEPES (pH 7,5), para determinação dos cits *b_{559HP}*, *b₅₆₃* e *b_{559LP}*, enquanto que para a determinação do cit *f*, tal foi feito numa solução tampão 50 mM de Tricina-KOH (pH

7,8), contendo 5 mM de MgCl e 1% de Triton X-100.

As concentrações dos cits *b_{559HP}*, *b_{559LP}*, *b₅₆₃* foram determinadas segundo Houchins e Hind (1984). O depósito obtido, como se descreveu no parágrafo anterior, foi ressuspensão numa solução tampão 40 mM HEPES (pH 7,5), de forma a obter-se uma concentração final de clorofila de 90 µg/ml. A determinação da concentração destes cits foi feita, utilizando como comprimento de onda referência 545 nm e determinando a diferença dos espectros das formas reduzida e oxidada. Foi feita a marcação dos isobeste considerando a variação da absorção nos comprimentos de onda 548-568 (para o caso do cit *b₅₅₉*) e 552-572 (para o cit *b₅₆₃*). Para o cit *b_{559HP}*, fez-se a determinação da variação espectral aplicando ascorbato (1 mM) e em alternativa hidroquinona (1 mM). Para o cit *b₅₆₃*, a determinação da variação espectral foi feita aplicando ditionito de sódio (1 mM) e em alternativa menadiol (1 mM). Relativamente ao cit *b_{559LP}* foi considerada a diferença espectral entre o menadiol (1 mM) e o ascorbato (1 mM) como traduzindo 60% da sua concentração tendo sido aplicado um coeficiente de absorvidade de 20 mM⁻¹ cm⁻¹.

A determinação do cit *f* foi feita segundo Spiller e Terry (1980). O depósito foi ressuspensão numa solução tampão 50 mM de Tricina-KOH (pH 7,8), contendo 5 mM de MgCl e 1% de Triton X-100 (de forma a obter uma concentração final de clorofila de 90 µg/ml). Utilizou-se a diferença espectral induzida pelo ferricianeto de potássio (0,2 mM) e pela hidroquinona (1 mM). A determinação foi feita a 554 nm, utilizando um coeficiente de absorvidade de 19.7 mM⁻¹ cm⁻¹.

6.2.4 Determinação da concentração da plastoquinona-9

A determinação da concentração da plastoquinona-9 (PQ-9) foi feita de acordo com

Redfearn e Friend (1962). As folhas (5 g) foram lavadas com água desionizada e homogeneizadas numa solução tampão 50 mM MES (pH 6,5), contendo 0,4 M de sorbitol, 10 mM de NaCl, 5 mM de MgCl₂, 2 mM de EDTA, 1 mM de MnCl₂, 2 mM de ascorbato e 0,4% de BSA. Após filtração com 4 camadas de gaze, e centrifugação (200 x g, 4 min., 4°C), o sobrenadante foi recolhido, novamente centrifugado (2000 x g, 4 min., 4°C), lavado (duas vezes) com o tampão de extracção e outra vez centrifugado (2000 x g, 4 min., 4°C).

De seguida, procedeu-se à recolha dos cloroplastos do depósito e suspensão dos mesmos em tampão fosfato 50 mM (pH 7,0), contendo 0,4 M de sacarose e determinação da concentração de Chl e acerto da concentração para 1 mg/ml. Ao extracto (1 ml), que continha os cloroplastos, foi adicionado 4 ml de acetona fria, contendo pirogalol (1,3 mg/ml) e 6 ml de éter de petróleo, agitado num vortex (à velocidade máxima e durante 2 min.) e centrifugado (200 x g, 2min.), tendo-se de seguida removido a camada contendo éter de petróleo. Adicionou-se novamente ao extracto, éter de petróleo (4ml). Procedeu-se novamente a agitação no vortex e a centrifugação, sendo depois removida a camada contendo o éter de petróleo.

Depois, adicionou-se ao extracto metanol (a 90%), procedeu-se a agitação no vortex (à velocidade máxima e durante 2 min.), centrifugação (200 x g, 2min.) e remoção da camada de metanol. Estas últimas operações foram repetidas (desde a adição do metanol) até a descoloração da solução. Só então as amostras foram evaporadas num excicador (no vácuo), sendo posteriormente adicionados aos resíduos 3 ml de etanol. Fez-se o registo do espectro da solução entre os comprimentos de onda de 230-320 nm. Em seguida, reduziu-se a solução, aplicando à mesma, 6 mg de borohidrito de sódio e o registo do espectro de absorção entre os comprimentos de onda de 230-320 nm. A determinação da concentração de PQ-9 foi feita através da variação da absorção a 255 nm entre a forma oxidada e

reduzida, utilizando o coeficiente de absorvidade de 14800.

6.2.5 Determinação do teor de clorofilas

A determinação foi feita utilizando as fórmulas de Arnon (1949). As amostras foram homogeneizadas (esta operação e as subsequentes decorreram em condições de penumbra) em acetona a 80% num almofariz. Após filtração, procedeu-se a centrifugação (2000 x g, 2 min.) e posterior recolha do sobrenadante contendo as clorofilas. A leitura da absorvância foi feita a: 663 e 645 nm. A determinação da concentração da clorofila, em $\mu\text{g/ml}$, foi feita utilizando as seguintes equações (1 - 3).

$$\text{Chl } a = (12,7 \times \text{Abs}_{663}) - (2,69 \times \text{Abs}_{645}) \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Chl } b = (22,9 \times \text{Abs}_{645}) - (4,68 \times \text{Abs}_{663}) \quad (\text{Eq. 3})$$

6.2.6 Determinação da actividade carboxilativa total da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase

A actividade carboxilativa total da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco, EC 4.1.39) foi quantificada através da incorporação de ^{14}C de acordo com o método de Parry *et al.* (1993). A enzima foi extraída de um disco foliar com $1,54 \text{ cm}^2$ de área, macerado em 1 ml de tampão TRIS 100 mM (pH 7,8), contendo 20 mM de MgCl_2 , 2 mM de PMSF e 50 mM de 2-mercapoetanol. O extracto foi centrifugado (10000 x g, 3 min., 4°C). Após a centrifugação, 50 μl do sobrenadante foram adicionados a 950 μl de tampão TRIS (pH 7,8), contendo 10 mM de MgCl_2 , 10 mM de NaHCO_3 e 10 mM $[\text{C}^{14}]\text{NaHCO}_3$ ($38,7 \text{ Gbq mol}^{-1}$). Após 3 min. de incubação nesta mistura, a determinação da actividade carboxilativa total da rubisco foi iniciada adicionando 0,4 mM de RuBP e interrompida 2 min. depois, adicionando 100 μl de ácido fórmico 12 N. Depois, as amostras

foram deixadas a evaporar, sendo-lhes posteriormente adicionado 200 ml de água desionizada (para solubilizar os resíduos) e 5 ml de uma mistura de cintilação preparada de acordo com Bray (1960). Fez-se em seguida a contagem num contador de cintilações (LS-1800, Beckman). À excepção da adição do extracto foliar, o padrão foi sujeito aos mesmos tratamentos que a amostra.

6.2.7 Análise estatística

A análise estatística foi feita conforme foi descrito no capítulo 3.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre as reacções de Hill e Mehler

Relativamente à cv. 57-422 (Fig.6.1A-B), verificou-se que as duas reacções envolvendo o PSII, principalmente a reacção $DPC \rightarrow DCPIP$, apresentaram, ainda mesmo em condições de S1, significativos decréscimos. Depois, em condições de S2, a situação manteve-se em relação ao nível do “stress” anterior. Apesar dos acréscimos verificados nas taxas da reacção $DCPIPH_2 \rightarrow MV$ (Fig. 6.1C), estes não foram significativos.

Quanto à cv. 73-30, os resultados mostraram que a reacção $H_2O \rightarrow DCPIP$ (Fig. 6.1A) não foi significativamente alterada pelas condições de “stress” hídrico prevaletentes, enquanto que a reacção $DPC \rightarrow DCPIP$ (Fig. 6.1B) foi igual e significativamente afectada nas duas condições de “stress” hídrico. A taxa da reacção $DCPIPH_2 \rightarrow MV$ (Fig. 6.1C) aumentou significativamente em condições de S1 e depois em condições de S2 decresceu para níveis que não diferiram significativamente daqueles que foram observados nas plantas controlo.

Finalmente, a cv. GC 8-35 (Figs. 6.1A-B), a qual em relação às reacções envolvendo o PSII, apresentou uma tendência semelhante à da 73-30. Nesta cv., a reacção $DCPIPH_2 \rightarrow MV$ (Fig. 6.1C) decresceu significativamente à medida que o RWC diminuiu.

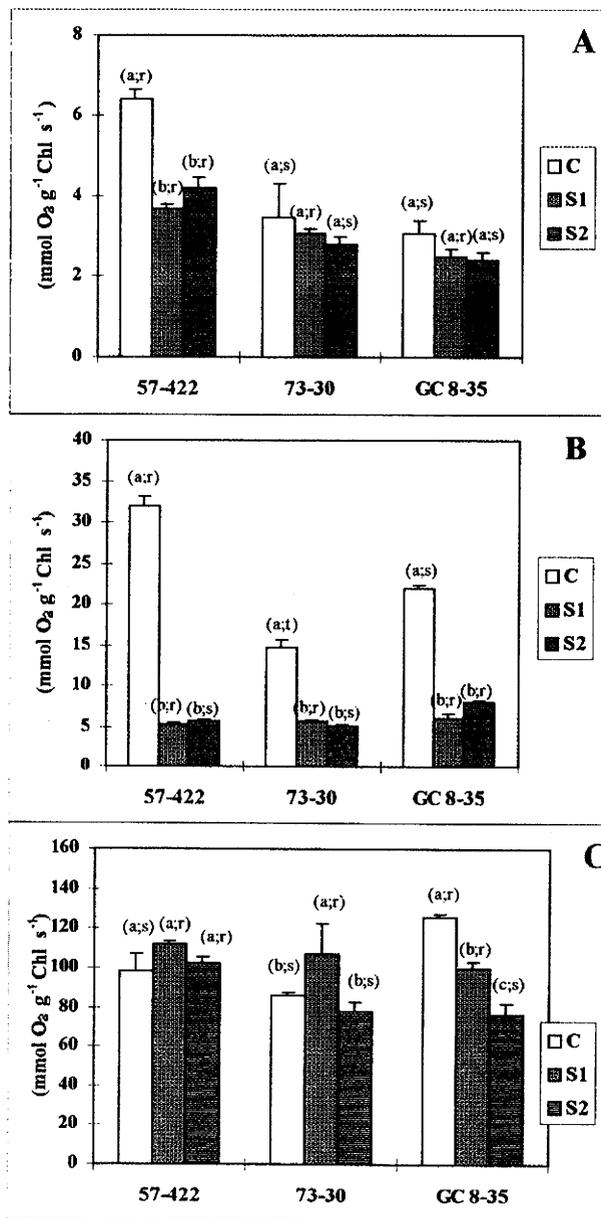


Fig. 6.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre as taxas de transporte de electrões da fotossíntese entre (A) H_2O -DCPIP, (B) DPC-DCPIP e (C) $DCPIPH_2$ -MV. Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

6.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre os transportadores de electrões

Relativamente à cv. 57-42, PQ-9 decresceu significativamente, ainda mesmo em condições de S1 (Fig. 6.2). As concentrações dos cits b_{559LP} e b_{563} foram significativamente afectadas apenas em condições de S2, enquanto que a do cit b_{559HP} o foi mesmo ainda em condições de S1, seguindo-se depois uma estabilização da situação em relação ao nível de “stress” hídrico anterior (Fig. 6.3). A concentração do cit f , apesar de uma ligeira tendência para aumentar em condições de S1, não foi significativamente alterada em qualquer um dos níveis de “stress” hídrico analisados (Fig. 6.3).

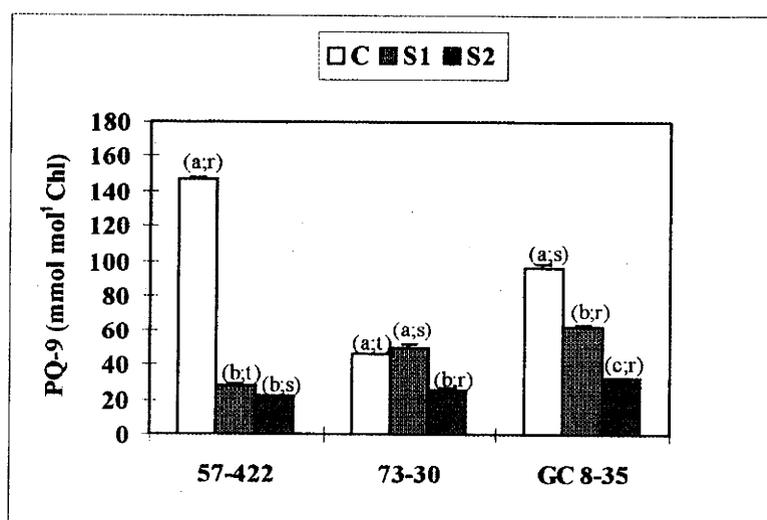


Fig. 6.2 Efeito do “stress” hídrico sobre a concentração de plastoquinona-9 (PQ-9). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras a , b e c representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras r , s e t representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

Na cv. 73-30, as concentrações de PQ-9 e dos cits b_{559HP} e b_{559LP} só foram significativamente afectadas em condições de S2 (Figs. 6.2-6.3). A concentração do cit b_{563} aumentou significativamente em condições de S1 e depois decresceu para níveis similares aos observados nas plantas controlo (Fig. 6.3). A concentração do cit f , apesar de uma ligeira tendência para aumentar em condições de S1, decresceu significativamente

em condições de S2.

Finalmente, na cv. GC 8-35, a concentração de PQ-9 decresceu à medida que o RWC diminuiu (Fig. 6.2). Por sua vez, a concentração do cit *b_{559LP}* decresceu já

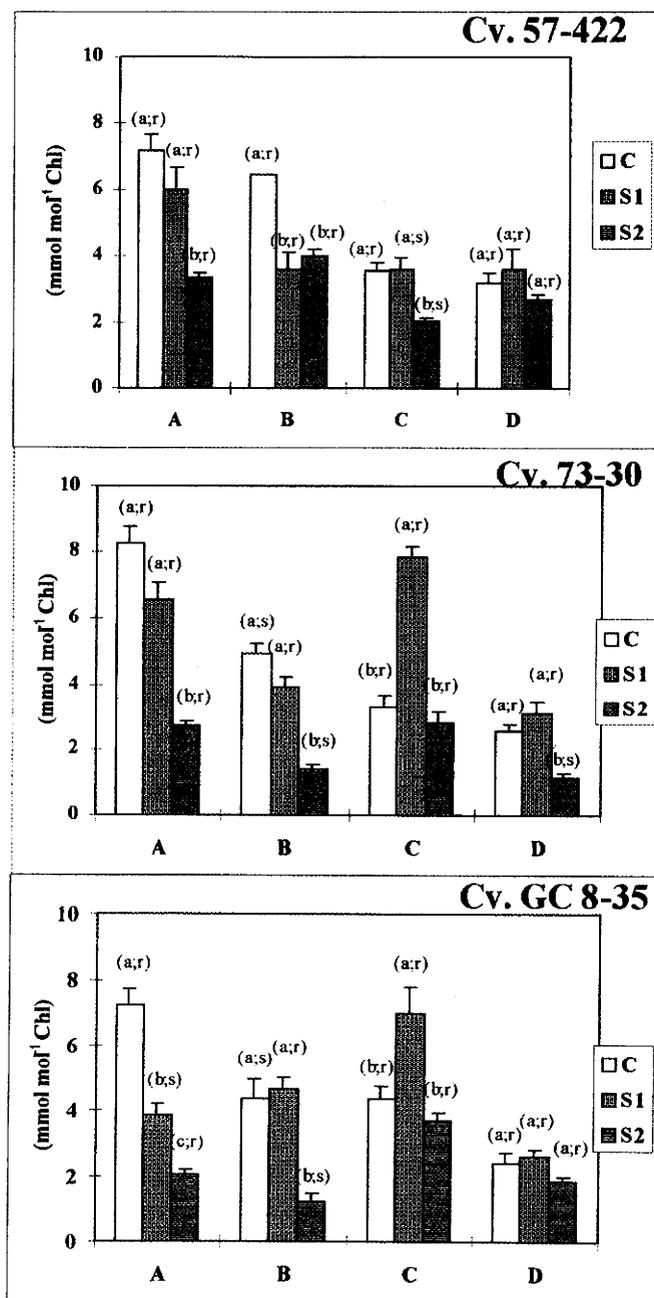


Fig. 6.3 Efeitos do “stress” hídrico sobre a concentração de alguns transportadores de electrões da fotossíntese: A (cit *b_{559LP}*), B (cit *b_{559HP}*), C (cit *b₅₆₃*) e D (cit *f*). Cada valor representa a média ± SE (n=5). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

significativamente em condições de S1, enquanto que a do cit b_{559HP} só decresceu significativamente em condições de S2 (Fig. 6.3). A do cit b_{563} aumentou significativamente em condições de S1 e depois decresceu em condições de S2 para níveis iguais aos verificados nas plantas controlo, enquanto que a do cit f não foi significativamente alterada em qualquer um dos níveis de “stress” hídrico analisados (Fig. 6.3).

6.3.3 Efeito do “stress” hídrico sobre a actividade carboxilativa total da rubisco

A actividade carboxilativa total da rubisco (Fig. 6.4), sofreu, em todas as cvs., um

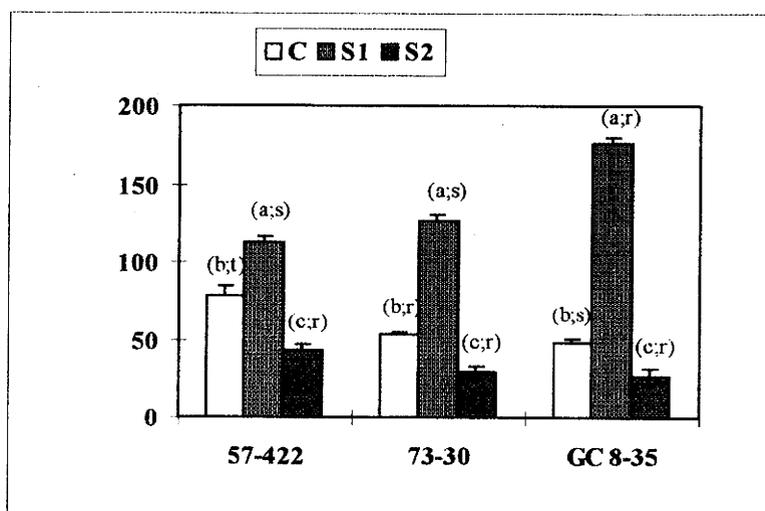


Fig. 6.4 Efeitos do “stress” hídrico sobre a actividade da rubisco ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras a , b e c representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras r , s e t representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

estímulo, em condições de S1, tendo contudo sido afectada apenas em condições de S2.

6.4 DISCUSSÃO

Em condições de “stress” hídrico, verifica-se um decréscimo no consumo dos

equivalentes redutores. Como as reacções fotoquímicas e carboxilativas estão coordenadas de modo a se manter um certo equilíbrio, protegendo desta forma todo o sistema, verificam-se também alterações em toda a cadeia de transporte de electrões. Uma delas diz respeito ao decréscimo da taxa a que se processa o fluxo de electrões da água para o NADP. Apesar destas evidências teóricas, os factos na realidade não são assim tão lineares como o demonstram os trabalhos de Keck *et al.* (1974), Mayoral *et al.* (1981), Sharkey e Badger (1982), Genty *et al.* (1987) e He *et al.* (1995).

Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram que o “stress” hídrico provocou um decréscimo na actividade da cadeia de transporte de electrões, facto que está de acordo com trabalhos anteriores (Boyer *et al.* 1970, Keck *et al.* 1974, Mohanty *et al.* 1976). De uma forma geral, o fluxo de electrões no sentido da H₂O para DCPIP revelou ser muito estável, ao contrário do que se verificou em relação ao fluxo de electrões do DPC para o DCPIP. Factos que, sugerem que o “stress” hídrico provocou uma inibição na actividade do PSII e que tal inibição terá ocorrido num local posterior ao centro de oxidação da água e anterior ao local de aceitação de electrões pelo DCPIP.

Relativamente à cv. 57-422, a resposta dos transportadores de electrões, quantificados neste trabalho, sugere que o decréscimo no fluxo de electrões ao nível do PSII, em condições de S1, se deveu ao decréscimo na concentração de PQ-9 e cit *b_{559HP}*, já que o teor de cit *b_{559LP}* não foi significativamente alterado. Nesta óptica, a inibição detectada, em condições de S2, relaciona-se com um decréscimo generalizado na concentração dos transportadores associados ao PSII.

Na cv. 73-30, os resultados obtidos sugerem que o decréscimo da actividade do PSII, em condições de S1, poderão relacionar-se com os decréscimos na concentração dos cits *b_{559HP}* e *b_{559LP}*, já que a concentração do PQ-9 manteve-se inalterada. Em condições de

S2, a inibição pode ser atribuída aos fortes decréscimos verificados ao nível dos dois componentes do cit b_{559} , aos quais se devem juntar os efeitos decorrentes da já significativa alteração dos níveis de PQ-9.

Finalmente a cv. GC 8-35, na qual o decréscimo da actividade do PSII, em condições de S1, parece ter como base os significativos decréscimos na concentração do cit b_{559LP} e de PQ-9, pois não se verificaram, nestas condições hídricas, alterações na quantidade do cit b_{559HP} . Em condições de S2, a inibição da actividade do PSII aconteceu, como sugerem os resultados, devido a um decréscimo generalizado na concentração de todos os transportadores a ele associados e aqui analisados.

Relativamente à actividade do PSI, a reacção DCPIP→MV da cv. 57-422 manteve-se inalterada tanto em condições de S1 como em condições de S2. Nestas duas situações, os resultados sugerem que a estabilidade dos cit b_{563} e f , principalmente este último, pode estar na base da estabilidade do PSI.

Na cv. 73-30, em condições de S1, a actividade do PSI é significativamente estimulada, facto que pode ser explicado pelos aumentos da concentração dos cit b_{563} e f e pela estabilidade de PQ-9. Destes factos se pode inferir também que, no mínimo, o transporte cíclico de electrões não foi inibido. O contrário pode ser dito em relação às condições de S2, já que o transporte de electrões do DCPIP para o MV foi muito ligeiramente inibido e, à excepção do cit b_{563} , cuja concentração não foi significativamente alterada, a concentração dos outros transportadores de electrões decresceu significativamente.

Na cv. GC 8-35, o transporte de electrões do DCPIP para MV mostra que a actividade do PSI sofreu já, em condições de S1, um decréscimo suave, embora

significativo, talvez devido ao decréscimo do fluxo de electrões a partir de PQ, já que nestas condições a concentração do cit *f* não sofreu qualquer alteração e a do cit *b₅₆₃* sofreu mesmo um significativo aumento. Em condições de S2, a actividade do PSI foi já forte e significativamente inibida, o que se aceita se se tiver em conta que, nestas condições hídricas, o próprio fluxo de electrões ao nível do PSII é significativamente inibido, para além se ter verificado também um decréscimo significativo na concentração dos transportadores associados à reacção de Melher.

Portanto, relativamente à actividade do PSI, os resultados mostraram também que o transporte fotossintético de electrões do DCPIP_{H₂} para o MV não foi afectado pelo “stress” hídrico, excepto no caso da cv. GC 8-35, sendo mesmo assim a inibição mais suave em relação ao PSII. O transporte de electrões envolvendo o PSI, foi mesmo significativamente incrementado em condições de S1 na cv. 73-30, do que se infere também que o PSII mostrou ser mais sensível ao “stress” hídrico do que o PSI. Esta constatação está de acordo com Havaux (1992) e Sharma e Singhal (1992) e tem a ver segundo alguns autores (Harbison e Foyer 1991, Heber e Walker 1992, Lawlor 1995), com o facto de, em condições de “stress” hídrico, o fluxo carboxilativo não acompanhar o fluxo fotónico, e as plantas, para se defenderem do excesso de energia, terem necessidade de canalizar os electrões para vias alternativas, como por exemplo, o fluxo cíclico em torno do PSI.

Relativamente ao efeito do “stress” hídrico sobre a actividade da rubisco, várias têm sido as opiniões apontando a sua estabilidade, em condições de S1, e a sua afectação apenas em condições S2 (Huffaker *et al.* 1970, Plaut 1971, Mayoral *et al.* 1981, Krieg 1983, Chaves 1991). Os resultados aqui obtidos estão de certa forma em consonância com estes autores, com apenas uma única diferença: em condições de S1, o que se verificou foi mesmo um incremento da actividade desta enzima, facto também já observado em

trabalhos anteriores com *Nicotiana tabacum* (Parry *et al.* 1993) e com *Salix*. sp. (Vapaavuori e Valanne 1982). A explicação que tem sido avançada para estas constatações, de acordo com vários autores (Vu *et al.* 1987, Sharkey e Seemann 1989, Lawlor 1995) é a de que, em condições de S1, o efeito deste constrangimento ambiental sobre a assimilação do CO₂ se faz sentir mais ao nível da síntese da rubisco do que propriamente ao nível da sua actividade, enquanto que, em condições de S2, verifica-se não só uma diminuição da sua concentração mas também um decréscimo da sua actividade. As razões do decréscimo da actividade podem ser encontradas, por exemplo, no ajustamento desta enzima ao baixo nível da actividade fotossintética (Kriedmann e Downton 1981) e na acidificação do estroma (Vu *et al.* 1987).

Os efeitos não-estomáticos podem decorrer do decréscimo da actividade dos fotossistemas (Kec e Boyer 1974, Mayoral *et al.* 1981) e de inibições ao nível do ciclo de Calvin (Sharkey e Badger 1982), concretamente ao nível da rubisco (Vu *et al.* 1987). Em relação aos nossos resultados, o que se pode dizer é que a actividade da rubisco aumentou em condições de seca moderada e que portanto, nestas condições hídricas, a afectação da maquinaria fotossintética não pode ser atribuída a inibições na actividade desta enzima. Pode sim, ser atribuída, como os resultados obtidos sugerem, a dificuldades no transporte de electrões, particularmente, ao nível do PSII. Em condições de seca severa, já é de considerar a influência negativa da inibição da actividade da rubisco no decréscimo da actividade da maquinaria fotossintética.

6.5 CONCLUSÕES

O “stress” hídrico provocou em todas as cvs. uma inibição na actividade da cadeia de transporte de electrões. O PSII revelou ser mais sensível do que o PSI. Aliás este

fotossistema só foi significativamente afectado pelo “stress” hídrico na cv. GC 8-35.

Em todas as cvs. estudadas, a actividade da Rubisco sofreu um estímulo em condições de S1, só sendo afectada em condições de S2. Portanto, em condições de S1, a afectação da maquinaria fotossintética não deverá ser atribuída a alterações na actividade desta enzima, mas antes ser imputada a inibições ao nível do transporte de electrões, particularmente, ao nível do PSII. Em condições de S2, já é de considerar a influência negativa da inibição da actividade da rubisco no decréscimo da actividade da maquinaria fotossintética.

6.6 BIBLIOGRAFIA

Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

Björkman O., Powles & S.B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta* 161: 490-504.

Boyer J.S. & Bowen B.L. 1970. Inhibition of oxygen evolution in chloroplast isolated from leaves with low water potentials. *Plant Physiol.* 45: 612-615.

Catský J. 1960. Determination of water deficit in discs cut out from leaf blades. *Biol. Plant.* 2: 76-77.

Chaves M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* 42:1-16.

Cornic G., Papageorgiou I. & Louason G. 1987. Effect of a rapid and slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non-stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 126: 309-318.

Di Marco G., Massaci A. & Gabrielli R. 1988. Drought effect on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiol. Plant.* 74: 385-390.

Di Marco G. & Tricoli D. 1993. Effect of water deficit on photosynthesis and electron transport in wheat grown in a natural environment. *J. Plant Physiol.* 142: 156-160.

Droppa M., Masojidek J., Rózsa Z., Wolak A., Horváth L., Farkas T. & Horváth G. 1987. Characteristics of Cu deficiency-induced inhibition of photosynthesis electron transport in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 891: 75-84.

Genty B., Briantais J.M. & Vieira da Silva J.B. 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83: 360-364.

Harbinson J. & Foyer C.H. 1991. Relationship between the efficiencies of photosystems I and II and stromal redox state in CO₂-free air. Evidence for cyclic electron flow *in vivo*. *Plant Physiol.* 97: 41-49.

Havaux M. 1992. Stress tolerance of photosystem II *in vivo*. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stresses. *Plant Physiol.* 100: 424-432.

He J.X., Wang J. & Liang H.G. 1995. Effects of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. *Physiol. Plant.* 93: 771-777.

Heber U. & Walker D. 1992. Concerning dual function of cyclic electron transport in leaves. *Plant Physiol.* 100: 1621-1626.

Houchins J.P. & Hind G. 1984. Concentration and function of membrane-bound cytochromes in cyanobacterial heterocysts. *Plant Physiol.* 76: 456-460.

Huffaker R.C., Radin T., Kleinkopf G.E. & Cox E.L. 1970. Effects of mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of the carboxylative phase of photosynthesis in barley. *Crop Sci.* 10: 471-474.

Jefferies R.A. 1994. Drought and chlorophyll fluorescence in field-grown potato. *Physiol. Plant.* 90: 93-97.

Johnson R.R., Frey N.M. & Moss D.N. 1974. Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Sci.* 14: 728-731.

Joshi S.C. 1995. Species specific diurnal changes in chlorophyll fluorescence in tropical deciduous and evergreen plants growing in the field during summer. *Photosynthetica* 31: 549-557.

Lawlor D.W. & Uprety D.C. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crop and

the biochemical mechanism. *In Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P. Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 421-445. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherland.

Lawlor D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. *In Environment and Plant Metabolism: flexibility and acclimation* (N. Smirnoff, ed.), pp. 129-160. Environmental Plant Biology Series, Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, England.

Lidon F.J.C & Henriques F.S. 1992 Effects of cooper on the nitrate to ammonia reduction mechanisms in rice plants. *Photosynthetica* 26: 371-380.

Kaiser W.M. 1987a. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.

Kaiser W.M. 1987b. Non-stomatal, primary dehydration effects on photosynthesis: possible mechanisms for reversible and irreversible damage. *Current Topics in Plant Biochem. Physiol.* 6: 119-133.

Keck R.W. & Boyer J.S. 1974. Chloroplast response to low leaf water potentials. III. Differing inhibition of electron transport and photophosphorylation. *Plant Physiol.* 53: 474-479.

Kriedemann P.E. & Downton J.S. 1981. Photosynthesis. *In The Physiology and*

- Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 283-314. Academic Press Australia, Sydney, Australia.
- Krieg D.R. 1983. Whole-plant response to water deficits: carbon assimilation and utilisation. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e R.T. Sinclair, eds.), pp. 277-287. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Wisconsin, USA.
- Mayoral M.L., Atsmon D., Shimsh D. & Gromet-Elhanan Z. 1981. Effect of water stress on enzyme activities in wheat and related wild species: carboxylase activity, electron transport and photophosphorylation in isolated chloroplast. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 385-393.
- Mohanty P. & Boyer J.S. 1976. Chloroplast response to low leaf potentials. IV. Quantum yield is reduced. *Plant Physiol.* 57: 704-709.
- O'Toole J.C., Ozbun J.L. & Wallace D.H. 1977. Photosynthetic response to water stress in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 40:111-117.
- Parry M.A.J., Delgado E., Vadell J., Keys J., Lawlor D.W. & Medrano H. 1993. Water stress and diurnal activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in field grown *Nicotiana tabacum* genotypes selected for survival at low CO₂ concentration. *Plant Physiol. Biochem.* 31: 113-120.
- Plaut Z. 1971. Inhibition of photosynthetic carbon dioxide fixation in isolated spinach

chloroplasts exposed to reduced osmotic potentials. *Plant Physiol.* 48:591-595.

Redfearn E.R. & Friend J. 1962. Studies on plastoquinone. 1. Determination of the concentration and oxidation-reduction state of plastoquinone in isolated chloroplasts. *Phytochemistry* 1: 147-151.

Sharkey T.D. & Badger M.R. 1982. Effect of water "stress" on photosynthetic electron transport, photophosphorylation, and metabolites levels of *Xanthium strumarium* mesophyll cells. *Planta* 156: 199-206.

Sharkey T.D. & Seemann 1989. Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle, intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant. Physiol.* 89: 1060-1065.

Sharma P.K. & Singhal S.G. 1992. The role of thylakoid lipids in the photodamage of photosynthetic activity. *Physiol. Plant.* 86: 623-629.

Spiller S. & Terry N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiol.* 65: 121-125.

Stuhlfauth T., Scheuermann R. & Fock H. 1990. Light energy dissipation under water stress conditions. *Plant Physiol.* 92: 1053-1061.

Vapaavuori E.M. & Valanne N.K.S. 1982. Activities of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in *Salix sp.* during water stress. *Photosynthetica* 16(1):1-6.

Vu J.C.V., Alen Jr. L.H. & Bowes G. 1987. Drought "stress" and elevated CO₂ effects on soybean ribulose bisphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiol.* 83: 573-578.

CAPÍTULO 7

MECANISMOS DE DISSIPACÃO DO EXCESSO DE ENERGIA EM CONDIÇÕES DE “STRESS” HÍDRICO

7.1 INTRODUÇÃO

Como já se disse, em condições de seca, é comum que as plantas fechem os estomas como forma de diminuir as perdas de água. No entanto, tal facto tem também como consequência, uma diminuição na capacidade de absorção de CO₂. Nestas circunstâncias, a taxa de captação de fotões poderá exceder as necessidades energéticas do metabolismo fotossintético (Krause 1988, Ludlow e Powles 1988, Sharma *et al.* 1990). Desta forma poderá ocorrer uma sobreexcitação ao nível das membranas tilacóidais e, eventualmente, o incremento da produção de formas reactivas de oxigénio, com efeitos deletérios para as plantas (Demmig-Adams 1990, Sgherri *et al.* 1993, 1996, Hidég 1997).

Para além do heliotropismo e propriedades reflectoras da superfície foliar, já descritas no Capítulo 2, as plantas podem também defender-se do excesso de energia através de outras vias. Ao nível do PSI, pela utilização de vias alternativas para o consumo dos electrões em excesso (Harbinson e Foyer 1991, Havaux 1992, Heber e

Walker 1992). Ao nível do PSII, através de um ciclo que lhe está associado, o qual permite diminuir a probabilidade de ocorrência da fotoinibição, tanto a que tem origem no dador, como a que tem origem no receptor (Thompson e Brudwig 1988, Buser *et al.* 1992, Barber e De Las Rivas 1993, Prasil *et al.* 1996). Finalmente, através dos carotenóides, os quais exercem a sua função protectora de três maneiras diferentes (Siefertmann-Harms 1987, Young e Britton 1990, Sharma e Hall 1993). Através do “quenching” da energia de excitação dos tripletos de clorofila, antes mesmo de poderem reagir com o oxigénio e desta forma prevenir a formação de oxigénio na forma de singlete (Young 1991, Sharma e Hall 1993, Assada 1987, 1994). A segunda forma exerce-se através do “quenching”/desactivação do oxigénio na forma de singlete que entretanto se tenha formado (Demmig-Adams 1990, Young e Britton 1990, Lidon e Henriques 1993). A terceira forma envolve a zeaxantina num mecanismo de dissipação de energia sob a forma de calor, no denominado ciclo das xantofilas (Demmig-Adams 1990, Schindler *et al.* 1994, Demmig-Adams *et al.*, 1995, Horton *et al.* 1996, Saccardy *et al.* 1998).

Os estudos *in vivo*, via parâmetros da fluorescência da clorofila *a* como sonda do que se passa ao nível do PSII, complementados com os estudos *in vitro* (reações de Hill e de Mehler e concentração de alguns transportadores de electrões) fornecem uma panorâmica geral sobre os mecanismos envolvidos na dissipação do excesso de energia em condições de seca. Assim sendo, os nossos objectivos neste capítulo prendem-se com a pesquisa de diferenças varietais em relação aos mecanismos de dissipação de energia em condições de seca, apoiando-nos naquelas ferramentas.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca

As condições gerais em que as plantas se desenvolveram e a determinação do

RWC já foram descritos nos Capítulos 2 e 3, respectivamente, enquanto que a imposição da seca e a natureza dos tratamentos a que as plantas foram submetidas foram descritos no Capítulo 6.

7.2 2. Determinação dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*

Os parâmetros da fluorescência da Chl *a* foram determinados, utilizando para o efeito um sistema PAM 2000 (H. Walz, Effeltrich, Germany). As folhas foram adaptadas à escuridão durante um período mínimo de 45 min, após o que se determinou a fluorescência basal (F_0) e a eficiência fotoquímica do PSII (F_v/F_m).

O “quenching” fotoquímico (q_p) foi determinado de acordo com Van Kooten e Snell (1990) e a estimativa da eficiência quântica do transporte não-cíclico de electrões (ϕ_e) foi estimada de acordo com Genty *et al.* (1989), sendo avaliados em condições fotossintéticas de equilíbrio dinâmico, sob $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente activa e utilizando “flashes” saturantes de $6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (com a duração de 0,8 s).

7.2 3. Extracção e separação de carotenóides

A extracção e separação dos carotenóides foi efectuada de acordo com o método de Hager e Meyer-Bertenrath (1966). Amostras de folhas (0,5 g) foram homogeneizadas (em condições de penumbra) em acetona a 85% e no frio (4-6°C). Após filtração (com papel de filtro Whatman nº 1) do homogenato procedeu-se à separação dos carotenóides por cromatografia de camada fina (TLC). As amostras foram aplicadas em placas contendo $\text{CaCO}_3/\text{MgO}/\text{Ca}(\text{OH})_2$ (na proporção de 72,8/14,8/12,4), previamente activadas (24h, 100 °C) e eluídas na mistura benzina/acetona/clorofórmio (na proporção de 35,7/35,7/38,6). Após esta separação, os

carotenóides foram eluídos em 2,2 ml de etanol, à excepção do caroteno que foi eluído em 3 ml de clorofórmio. Após filtração (papel de filtro Whatman nº 1) a concentração dos diferentes carotenóides foi efectuada por espectrofotometria de absorção molecular utilizando os comprimentos de onda e os coeficientes de absorvidade abaixo discriminados.

Carotenóides	Comprimento de onda	Coefficiente de absorvidade
β -caroteno	464	2200
Luteína-5,6-epósido	440	2400
Violaxantina	441	2500
Luteína	446	2540
Neoxantina	438	2270
Zeaxantina	451	2480

7.2.4 Determinação do teor de clorofilas

A determinação do teor de clorofilas foi feita segundo Arnon (1949), conforme referido no Cap. 6.

7.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi feita conforme o descrito no capítulo 3.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*

Quanto aos dados da fluorescência da Chl *a*, observou-se que, na cv. 57-422 (Fig. 7.1), F_0 e a razão F_v/F_m não foram significativamente afectados em condições de S1. Em condições de S2, F_0 não foi significativamente alterado, enquanto que a razão F_v/F_m decresceu significativamente. Por sua vez, q_p não foi significativamente afectado

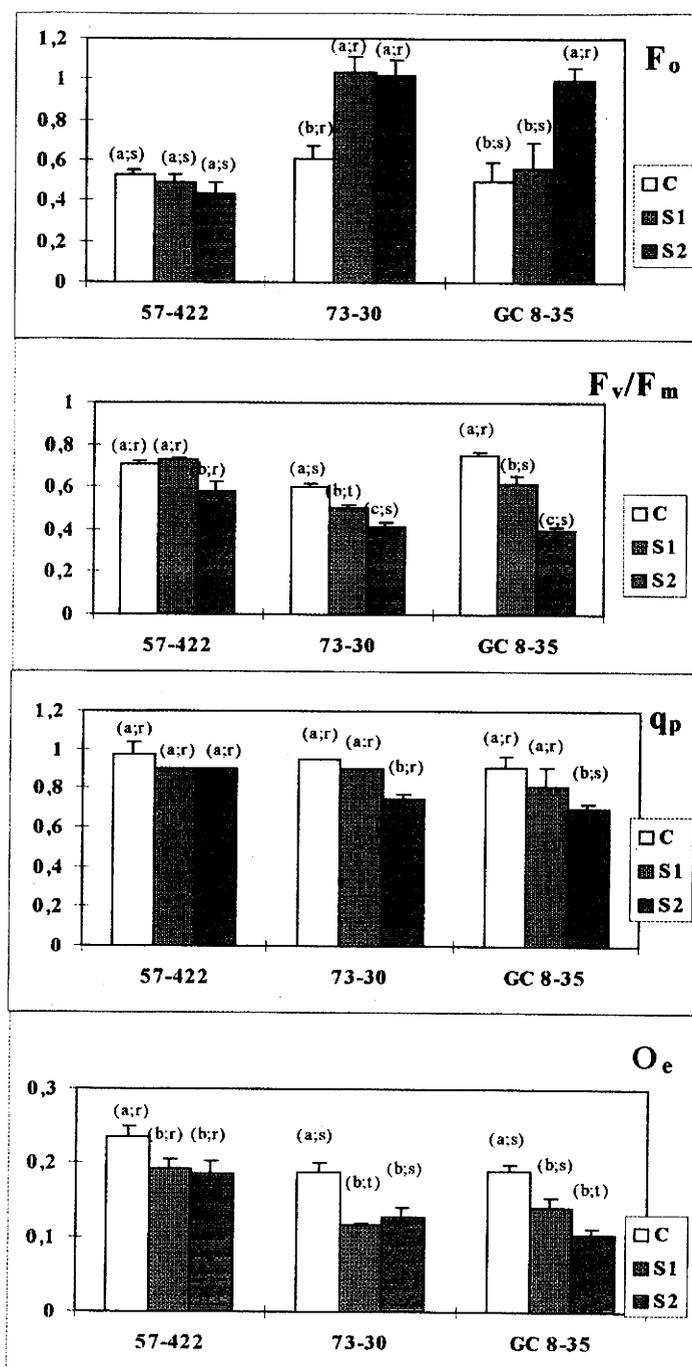


Fig. 7.1 Efeitos da seca sobre a fluorescência mínima (F_0), razão entre fluorescência variável e a máxima (F_v/F_m), “quenching” fotoquímico e a eficiência do transporte acíclico de electrões (ϕ_e). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

em qualquer um dos níveis de seca analisados, enquanto que ϕ_e sofreu um decréscimo significativo, já em condições de S1 mantendo-se depois o valor para níveis de desidratação mais elevados (S2).

Relativamente à cv. 73-30, verificaram-se aumentos significativos de F_0 associados a decréscimos significativos da razão F_v/F_m (Fig. 7.1), tanto em condições de S1, como em condições de S2. Por seu lado, q_p só foi significativamente afectado em condições de S2, enquanto ϕ_e o foi já em condições de S1.

Finalmente na cv. GC 8-35, observou-se um aumento gradual de F_0 (significativo apenas em S2) à medida que o RWC decrescia. Tal aumento foi acompanhado por decréscimos significativos da razão F_v/F_m (Fig. 7.1). Por sua vez, q_p e ϕ_e sofreram decréscimos graduais com o aumento do nível de “stress”, sendo tais decréscimos significativos para q_p só em S2 e para ϕ_e já a partir de S1 (Fig. 7.1).

7.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre os carotenóides

Relativamente à cv. 57-422, a concentração de luteína, zeaxantina e do conjunto

Tab. 7.1 Efeitos da seca sobre a concentração (mmol mol^{-1} Chl) de luteína (L), zeaxantina (Z), violaxantina+neoxantina (V+N) e carotenos (Car). Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

Cv.	C	Nível de desidratação		
		S ₁	S ₂	
57-422	L	5,2 \pm 0,1 ^(a;rs)	1,9 \pm 0,1 ^(b;st)	1,3 \pm 0,1 ^(b;s)
	Z	2,7 \pm 0,1 ^(a;r)	0,81 \pm 0,0 ^(b;s)	0,48 \pm 0,0 ^(c;s)
	V + N	1,5 \pm 0,1 ^(a;r)	0,81 \pm 0,0 ^(b;s)	0,48 \pm 0,0 ^(c;s)
	Car	1,5 \pm 0,0 ^(a;s)	1,1 \pm 0,1 ^(b;r)	1,2 \pm 0,0 ^(ab;r)
73-30	L	4,3 \pm 0,2 ^(a;s)	0,96 \pm 0,0 ^(c;t)	2,5 \pm 0,1 ^(b;r)
	Z	1,5 \pm 0,1 ^(a;s)	0,35 \pm 0,0 ^(b;s)	1,0 \pm 0,1 ^(a;r)
	V + N	0,91 \pm 0,0 ^(a;s)	0,35 \pm 0,0 ^(b;t)	1,0 \pm 0,0 ^(a;r)
	Car	1,7 \pm 0,1 ^(a;s)	1,1 \pm 0,0 ^(b;r)	1,8 \pm 0,1 ^(a;r)
GC 8-35	L	5,8 \pm 0,5 ^(a;r)	3,6 \pm 0,4 ^(b;r)	2,4 \pm 0,1 ^(c;r)
	Z	1,6 \pm 0,2 ^(a;s)	1,7 \pm 0,1 ^(a;r)	0,78 \pm 0,2 ^(b;r)
	V + N	1,1 \pm 0,1 ^(b;r)	1,7 \pm 0,0 ^(a;r)	0,78 \pm 0,2 ^(b;rs)
	Car	3,2 \pm 0,2 ^(a;r)	0,67 \pm 0,0 ^(c;r)	1,9 \pm 0,2 ^(b;r)

violaxantina+neoxantina decresceram significativamente, tanto em condições de S1 como em condições de S2, enquanto que a dos carotenos foi significativamente alterada apenas em condições de S1 (Tab. 7.1).

Quanto a cv. 73-30, a luteína foi significativamente mais afectada em condições de S1 do que em condições de S2. Os restantes carotenóides, após terem sofrido decréscimos significativos em condições de S1, apresentaram, em condições de S2, recuperações significativas, tendo atingido níveis similares aos do controlo (Tab. 7.1).

Finalmente na cv. GC 8-35, a luteína e os carotenos foram significativamente afectados, tanto em condições de S1 como em condições de S2, enquanto que a zeaxantina e o conjunto violaxantina+neoxantina apenas o foram em condições de S2 (Tab. 7.1).

7.4. DISCUSSÃO

Relativamente à cv. 57-422, os resultados sugerem que, em condições de S1, a capacidade de absorção de luz e sua transferência para os centros de reacção, assim como a eficiência do PSII, não foram afectadas, já que tanto F_0 , assim com a razão F_v/F_m não foram significativamente alterados, factos também já anteriormente observados em *Digitalis lanata* (Stuhlfauth *et al* 1990). Em condições de S2, apesar de, aparentemente, se continuar a não verificar perturbações significativas ao nível das antenas, observou-se um decréscimo significativo na eficiência do PSII (que no entanto foi menor do que o verificado nas outras duas cvs.), o que vai de encontro aos resultados obtidos anteriormente em outras espécies (Cornic e Briantais 1991, Schäfer and Schmidt 1991, Epron *et al.* 1992, Brestic *et al.* 1995). Dados, os decréscimos das duas formas do cit b_{559} (Fig. 6.3) e de PQ-9 (Fig. 6.2), não nos parece que o ciclo de dissipação de energia envolvendo o PSII tenha sido eficiente em qualquer dos níveis de

seca. O mesmo se pode dizer em relação aos carotenos e à zeaxantina. Finalmente, a estabilidade da reacção de Mehler (Fig. 6.1), e o comportamento dos citocromos b_{563} e f (Fig. 6.2) sugerem a manutenção do ciclo dissipativo envolvendo PSI, o qual terá contribuído para a dissipação de energia, pelo menos em condições de S1.

Na cv. 73-30, os incrementos de F_0 associados a decréscimos de F_v/F_m , verificados já em condições de S1, reflectem o declínio da actividade do PSII, podendo sugerir a ocorrência de danos nos centros de reacção e antenas (Krause 1988, Franklin *et al.* 1992), que podem estar relacionados com o aumento da produção de formas reactivas de oxigénio (Takahama e Nishimura 1975, 1976, Durant *et al.* 1990, Winston 1990). Em condições de S1, apesar de F_0 e F_v/F_m terem sofrido alterações significativas, observou-se alguma estabilidade no teor das formas de PQ-9 (Fig. 6.2) e do cit b_{559} (Fig. 6.3), o que permite supor que o ciclo dissipativo envolvendo o PSII possa ter contribuído para a dissipação de algum excesso de energia. Por outro lado, os aumentos da taxa da reacção de Mehler (Fig. 6.1) e das concentrações dos cit b_{563} e f (Fig. 6.3), sugerem a presença de um ciclo em torno do PSI, o qual poderá também ter efectivamente contribuído para a dissipação do excesso de energia. Em condições de S2, tais ciclos não terão funcionado eficientemente, devido ao decréscimo da concentração dos transportadores de electrões neles intervenientes, levando a uma afectação ainda maior do PSII, como sugere o maior decréscimo da razão F_v/F_m , apesar de uma recuperação do teor de zeaxantina.

A cv. GC 8-35 não se mostrou afectada no funcionamento das antenas em condições de S1, mas mostrou já decréscimos significativos na razão F_v/F_m que se acentuaram em condições de S2, e aqui associados a fortes aumentos do F_0 . Tal como a 57-422, apresentou decréscimos na concentração de PQ-9 (Fig. 6.2) e das formas de cit b_{559} (Fig. 6.3) ainda em condições de S1, pelo que se poderá também inferir que o ciclo

envolvendo o PSII não terá tido papel de relevo na dissipação de energia. Na cv. GC 8-35, a reacção de Mehler foi já significativamente afectada em condições de S1 e portanto também não é de supor que o ciclo em torno do PSI tenha tido aqui papel de relevo na dissipação de energia. Esta cv. apresentou no entanto uma manutenção do teor de zeaxantina apenas em condições de S1, o que poderá ter conferido alguma protecção dos fotossistemas nessas condições hídricas.

7.5 CONCLUSÕES

A cv. GC 8-35 assemelhou-se à cv. 57-422, pelo facto de ter mantido as suas antenas intactas em condições de S1. Por outro lado, diferiu dela e assemelhou-se à 73-30 por ter apresentado já nessas condições hídricas decréscimos significativos na razão F_v/F_m , que se acentuaram em condições de S2, e aqui associados a fortes aumentos do F_0 . Nas cvs. 73-30 e GC 8-35, a afectação da eficiência do PSII ocorreu já em condições de S1, enquanto que na cv. 57-422 tal ocorreu apenas em condições de S2.

O ciclo de dissipação de energia envolvendo o PSII parece só ter sido importante na cv. 73-30 e mesmo assim apenas em condições de S1. Relativamente ao ciclo envolvendo o PSI, a cv. GC 8-35 diferiu das outras duas, pois este ciclo parece já ter sido significativamente afectado em condições de S1 e portanto não dever ter tido papel de relevo na dissipação de energia nessa cv. Este ciclo pode ter sido importante na 57-422, pelo menos em condições de S2. Por seu lado, a cv. 73-30 foi a única em que a reacção de Mehler e a concentração dos cit do complexo *b/f* foram significativamente estimulados (em condições de S1) e portanto a única em que o ciclo em torno do PSI deve ter sido fundamental para a dissipação do excesso de energia.

7.6 BIBLIOGRAFIA

- Asada K. 1994. Mechanisms for scavenging reactive molecules generated in chloroplasts under stress. *In Photoinhibition of Photosynthesis - From Molecular Mechanisms to the Field* (N.R. Baker e J.R. Bower, eds.), pp. 129-142. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, England.
- Asada K. & Takahashi M. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. *In Photoinhibition*, Vol. 9, (D.J. Kyle, C.B. Osmond e C.J. Arntzen, eds.), pp. 227-287. Topics in photosynthesis, Elsevier Science Publishing, B.V., England.
- Barber J. & De Las Rivas J. 1993. A functional model for the role of cytochrome *b₅₅₉* in the protection against donor and acceptor side photoinhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10942-10946.
- Brestic M., Cornic G., Fryer M.J. & Baker N.R. 1995. Does photorespiration protect the photosynthetic apparatus in french bean leaves from photoinhibition during drought stress? *Planta* 196: 450-457.
- Buser C.A., Diner B.A. & Brudvig G.W. 1992. Photooxidation of cytochrome *b₅₅₉* in oxygen-environmental photosystem II. *J. Biochem.* 31: 11449-11459.
- Cornic G. & Briantais J.M. 1989. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentration and during drought stress. *Planta* 183: 178-184.

- Demmig-Adams B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1020: 1-24.
- Demmig -Adams B., Adams W.W., Logan B.A. & Verhoeven A. 1995. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plants acclimated to light stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 249-260.
- Durrant J.R., Giorgi L.B. Barber J., Klug D.R. & Porter G. 1990. Characterisation of triplet state in isolated photosystem II reaction centre: oxygen quenching as a mechanism of photodamage. *Biochim. Biophys. Acta* 1017: 167-175.
- Epron D., Dreyer E. & Bréda N. 1992. Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant Cell Environ.* 15: 808-820.
- Franklin L.A., Levavasseur G., Osmond C.B., Henley W.J. & Ramus W.J. 1992. Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. *Planta* 186: 399-408.
- Genty B., Briantais J.-M. & Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- Hager A. & Meyer-Bertenrath T. 1966. Die isolierung und quantitative bestimmung der

- carotinoide und chlorophylle von blättern, algen un isolierten chloroplasten mit hilfe dunnschichtchromatographischen methoden. *Planta* 69: 198-217.
- Harbison J. & Foyer C.H. 1991. Relationships between the efficiencies of photosystems I and II and stromal redox satate in CO₂-free air. *Plant Physiol.* 97: 41-49.
- Havaux M. 1992. Stress tolerance of photosystem II *in vivo*. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stress. *Plant Physiol.* 100: 424-432.
- Heber U. & Walker D. 1992. Concerning dual function of coupled cyclic electron transport in leaves. *Plant Physiol.* 100: 1621-1626.
- Hidég É. 1997. Free radical production in photosynthesis under stress conditions. *In Handbook of Photosynthesis* (M. Pessarakli, ed.), pp. 911-930. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Horton P., Ruban A. V. & Walter R.G. 1996. Regulation of light harvesting in green planta. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 655-684.
- Lidon F.J.C. & Henriques F.S. 1993. Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica* 29: 249-279.
- Ludlow M.M. & Powles S.B. 1988. Effect of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 179-194.

- Krause G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 77: 566-574.
- Mishra N.P., Fatma T. & Singhal G. 1995. Development of antioxidative defence system of wheat seedlings in response to light. *Physiol. Plant.* 95: 77-82.
- Prasil O., Kolber Z., Berry J.A. & Falkowski P.G. 1996. Cyclic electron flow around photosystem II *in vivo*. *Photosynth. Res.* 48: 395-410.
- Saccardy K., Pineau B., Roche O. & Cornic G. 1998. Photochemical efficiency of photosystem II and xanthophyll cycle components in *Zea mays* leaves exposed to water stress and high light. *Photosynth. Res.* 56: 57-66.
- Schäfer C. & Schmidt 1991. Light acclimation potential and xanthophyll cycle pigments in photoautotrophic suspension cells of *Chenopodium rubrum*. *Physiol. Plant.* 82: 440-448.
- Schindler C., Reith P. & Lichtenthaler H.K. 1994. Differential levels of carotenoids and decrease of zeaxanthin cycle performance during leaf development in a green and in shade aurea variety of tobacco. *J. Plant Physiol.* 143: 500-507.
- Sgherri C.L.M., Pinzino C. & Navari-Izzo F. 1993. Chemical change and $O_2^{\bullet -}$ production in thylakoid membranes under water stress. *Physiol. Plant.* 87: 211-216.
- Sgherri C.L.M., Pinzino C. & Navari-Izzo F. 1996. Sunflower seedlings subject to

increasing water deficit: Changes in $O_2^{\bullet-}$ production related to the composition of the thylakoid membranes. *Physiol. Plant.* 96: 446-452.

Sharma P.K. & Hall D.O. 1990. The effect of photoinhibition, sal stress and their interaction on photosynthesis in sorghum. In *Current Research in Photosynthesis*, Vol. II, (Baltscheffsky ed.), pp. 487-490. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Sharma P.K. & Hall D.O. 1993. The role of carotenoids in plants against photoinhibition. In *Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity* (Y. Abrol, P. Mohanty e Govinjee, eds.), pp. 469-478. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Siefermann-Harms D. 1987. The light-harvesting and protective function of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plant.* 69: 561-566.

Stuhlfauth T., Sültemeyer D.F., Weinz S. & Fock H.P. 1990. Fluorescence quenching and gas exchange in a water stressed C_3 plant, *Digitalis lanata*. *Plant Physiol.* 86: 246-250.

Takahama U. & Nishimura M. 1975. Formation of singlet molecular oxygen in illuminated chloroplasts. Effects on photoinactivation and lipid peroxidation. *Plant Cell Physiol.* 16: 737-748.

Takahama U. & Nishimura M. 1976. Effects of electron donor and acceptors, electron

transfer mediators, and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments. *Plant Cell Physiol.* 17: 111-118.

Thompson L.K. & Brudwing G.M. 1988. Cytochrome b-559 may function to protect photosystem II from photoinhibition. *J. Biochem.* 27: 6653-6658.

Van Kooten O. & Snell J.F.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25: 147-150.

Winston G.W. 1990. Photochemical basis for free radical formation in cells: Production and defences. *In Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Vol. 12, (R.G. Alsher R. e J.R. Cumming, eds.), pp 57-86. Plant Biology Series, New York, USA.

Young A.J. & Britton G. 1990. Carotenoids and stress. *In Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Vol. 12, (R.G. Alsher R. e J.R. Cumming, eds.), pp. 87-112. Plant Biology Series, New York, USA.

Young A. J. 1991. The protective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83: 702-708.

CAPÍTULO 8

A ESTABILIDADE DOS LÍPIDOS COMO DETERMINANTE DA TOLERÂNCIA À SECA

8.1 INTRODUÇÃO

De acordo com Kramer (1983) a seca é o factor com maior interferência no crescimento vegetal e na produtividade agrícola. A ocorrência de períodos de seca provoca, por vezes, quebras acentuadas de produção na agricultura de sequeiro (Jacquinot *et al.* 1981, Li *et al.*, 1990; Lawlor e Uprety 1993).

A seca limita a produção através da inibição do crescimento e da fotossíntese, via redução da área foliar e da fotossíntese por unidade de área foliar (Kriedmann 1986, Vu *et al.* 1987). De acordo com Price e Hendry (1991), subjacente a estas respostas existe um conjunto de eventos metabólicos, de ocorrência subcelular, de cuja compreensão dependem, em larga medida, os nossos conhecimentos sobre os mecanismos de resistência à seca, e de que a alteração da constituição quantitativa e

qualitativa dos lípidos membranares é apenas um exemplo.

Apesar das diferenças relacionadas com o genótipo e com o nível de desidratação, alterações no teor e composição dos lípidos constituem uma reacção generalizada das plantas como resposta a vários tipos de “stress” (Stefanov *et al.* 1992b, Cachorro e Cerda 1993, Lidon 1993, Gombos *et al.* 1994, Ramalho 1998).

Como os lípidos acilo são os maiores componentes das membranas das plantas (Harwood 1980, Anderson 1986, Webb e Green 1991), decréscimos na sua quantidade, frequentes nas plantas submetidas ao “stress” hídrico, aumentam a permeabilidade celular (Zuily-Fodil *et al.* 1990, Navari-Izzo *et al.* 1993b).

A capacidade das plantas manterem, em condições de seca, a integridade das membranas pode, portanto, determinar a sua resistência em relação ao “stress” hídrico. Por isso é que a estabilidade das membranas celulares é uma característica muito utilizada como critério de avaliação da resistência dos vegetais à seca (Premachandra e Shimada 1987a, Zuily-Fodil *et al.* 1990, Afonso 1998).

A danificação das membranas resulta numa série de eventos, levantando problemas ao nível do funcionamento celular, nomeadamente o decréscimo da actividade fotossintética. Por isso, este capítulo tem como objectivo, por um lado, o de pesquisar diferenças varietais em relação à estabilidade da concentração dos lípidos acilo em condições de seca e, por outro, relacionar esta estabilidade com a permeabilidade das membranas e com a estabilidade do aparelho fotossintético.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

8.2.1 Condições gerais de crescimento e imposição da seca

As condições gerais de crescimento foram já descritas no Capítulo 2. Para a determinação da estabilidade das membranas e da capacidade fotossintética, a seca foi

imposta pelo polietilenoglicol (PEG 600), enquanto que para o estudo dos lípidos acilo, a seca foi imposta por suspensão da rega e as plantas sujeitas a três tratamentos, conforme já foi descrito no Capítulo 3.

8.2.2 Determinação da estabilidade das membranas e da capacidade fotossintética

A estabilidade das membranas foi quantificada através do teste do PEG. O teste foi realizado, utilizando para o efeito, amostras de 10 discos foliares de 0,8 cm² cada. Antes de retirar os discos foliares, os folíolos foram bem lavados com água desionizada. Uma vez retirados, os discos foram colocados em pesa filtros e lavados 3 vezes com água desionizada, sendo depois colocados em pesa filtros de vidro contendo 10 ml de uma solução de PEG 30% (tratamento de seca) ou em igual quantidade de água desionizada (testemunha). Passadas 17 horas, os discos foliares foram retirados, lavados com água desionizada (apenas os tratados com PEG para retirar deles alguns resíduos desta substância) e posteriormente colocados em 10 ml de água desionizada. A condutividade foi medida ao fim de 6 horas do período de reidratação.

Posteriormente, os pesa filtros contendo os discos foram levados para uma estufa a 90 °C, onde permaneceram 2 horas. Foram deixados arrefecer, fazendo-se em seguida nova leitura da condutividade electrolítica, para determinação da condutividade total. A percentagem de dano das membranas, expressa como um índice de dano, foi calculada de acordo com Vasquez Tello *et al.* (1990): $I\% = [1 - (T - D/T - W)] \times 100$, onde D e W representam a condutividade da modalidade tratada e do controlo respectivamente, e T a condutividade total do controlo. Para estabelecer uma relação entre %I e alterações na actividade fotossintética, a A_{max} foi quantificada em discos desidratados pelo PEG, como se descreve no capítulo 2.

8.2.3 Extracção e separação de lípidos acilo de membranas tilacoidais

A extracção e separação de lípidos acilo de membranas tilacoidais efectuou-se segundo o método descrito por Droppa *et al.* (1987). Neste processo, procedeu-se a obtenção das fracções sub-cloroplásticas (i) e extracção, separação e quantificação de lípidos acilo de membranas tilacoidais (ii).

Para a obtenção das fracções subcloroplásticas, após a lavagem das amostras (constituídas cada uma por 5 g de material foliar fresco) com água desionizada, as mesmas foram homogeneizadas em 30 ml de uma solução tampão 50 mM de MES (pH 6,4), contendo 0,4 M de sorbitol, 10 mM de NaCl, 5 mM de MgCl₂, 2 mM de EDTA, 1 mM de MnCl₂, 2 mM de ascorbato e 0,4% de BSA, 4°C. O homogenato foi filtrado em 4 camadas de gaze e centrifugado (200 x g, 4 min., 4°C). Após centrifugação, o depósito contendo os cloroplastos foi submetido a uma 2ª centrifugação (2000 x g, 4 min., 4°C), após nova adição de tampão de extracção. A seguir procedeu-se à ressuspensão dos cloroplastos numa mistura clorofórmio:metanol:água (1:1:1).

A extracção, separação e quantificação dos lípidos acilo de membranas tilacoidais foi então efectuada nestas fracções sub-cloroplásticas. Procedeu-se à agitação num vortex e subsequente centrifugação (2000 x g, 4 min.). Removeu-se a camada inferior (contendo clorofila) com uma pipeta de Pasteur e procedeu-se à separação de lípidos acilo por cromatografia em camada fina (TLC) em placas de sílica Gel 60G, previamente activadas (24h, 100°C) utilizando como eluente a mistura acetona/benzeno/água desionizada (91/30/8). As manchas foram detectadas, sob a irradiação de uma lâmpada UV imediatamente após a aplicação de um “spray” contendo 1% de ácido sulfónico anilina-naftaleno (ANS) dissolvido em metanol. Para o doseamento dos galactolipidos (GL), as manchas correspondentes foram eluídas numa mistura contendo 0,5 ml de água desionizada e 2,5 ml de uma solução de antrona (0,4 g

de antrona, 16 ml de etanol e 40 ml de água desionizada). Após aquecimento em banho maria (10 min., 95°C) e subsequente arrefecimento em gelo, as amostras foram centrifugadas (2000 x g, 2 min.). Recolheu-se o sobrenadante e procedeu-se à quantificação de monogalactosildiacylglicerol (MGDG) e digalactosildiacylglicerol (DGDG), determinando a concentração de galactose, lendo a absorvância a 625 nm, e utilizando uma recta padrão, previamente elaborada. As manchas correspondentes aos fosfolípidos (PL) foram eluídas em 0,5 ml de HCl (0,5 M), 2,5 ml de água desionizada e, após agitação num vortex, centrifugadas (3000 x g). Recolheu-se o sobrenadante, o pH foi corrigido para 1 (utilizando ácido nítrico), adicionou-se 1 ml de amarelo de vanadato e água desionizada (para perfazer um volume final de 5 ml). A determinação de fosfatidilcolina (PC), fosfatidilglicerol (PG) e fosfatidilinositol (PI) foi efectuada, estimando a concentração de fósforo, lendo a absorvância a 470 nm.

8.2.4 Análise estatística

A análise estatística foi feita conforme o descrito no Capítulo 3.

8.3 RESULTADOS

8.3.1 Efeitos do “stress” hídrico sobre a estabilidade das membranas e a capacidade fotossintética

Os resultados mostram que a desidratação imposta pelo PEG provocou, em todas as cvs., um aumento na fuga de electrólitos (Fig. 8.1). Contudo, as cvs. apresentaram diferenças em relação ao grau de sensibilidade ao PEG. A fuga de electrólitos foi maior na cv. 73-30 do que nas outras duas cvs. A capacidade fotossintética foi também afectada por este tratamento, mais nas cvs. GC 8-35 e 73-30 do que na cv. 57-422 (Fig. 8.1).

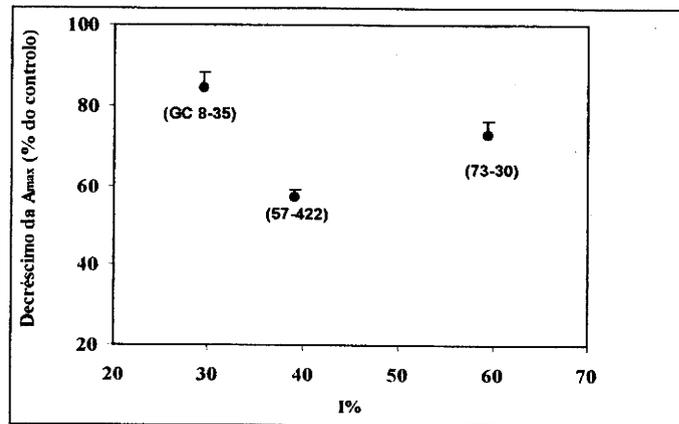


Fig. 8.1. Relação entre o decréscimo da A_{max} e a danificação das membranas (I%) nas cvs. de amendoim estudadas. Cada valor representa a média ± SE (n=5).

8.3.2 Efeito da seca no teor de lípidos acilo

Em relação aos efeitos da seca sobre a quantidade total de lípidos acilo (Fig. 8.2),

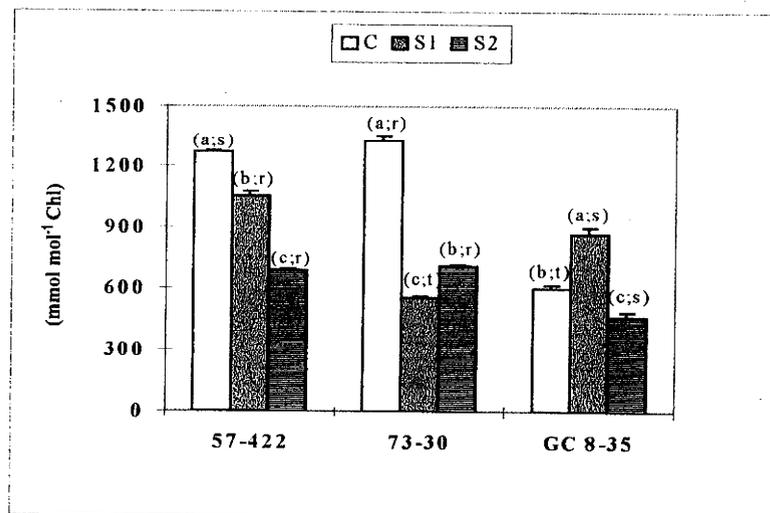


Fig. 8.2 Efeitos da seca sobre a quantidade total de lípidos acilo. Cada valor representa a média ± SE (n=5). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

verificaram-se diferenças entre as cvs. e entre os níveis de “stress”. Na cv. 73-30, o decréscimo foi já acentuado em condições de S1, enquanto que na cv. 57-422, a redução foi gradual, à medida que o RWC baixou. Estas duas cvs. apresentaram os mais elevados teores iniciais desta classe de lípidos, enquanto que a cv. GC 8-35 apresentou

Tab. 8.1 Efeitos da seca sobre o teor das diferentes classes de lípidos acilo (mmol mol^{-1} Chl). Cada valor representa a média \pm S.E ($n=5$). As letras *a*, *b* e *c* representam diferenças significativas entre os níveis de desidratação, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada nível de desidratação.

		Tratamentos		
Cv.		C	S1	S2
57-422	MGDG	748 \pm 20,3 ^(a;r)	613 \pm 19,3 ^(b;r)	431 \pm 9,1 ^(c;r)
	DGDG	292 \pm 5,7 ^(a;s)	253 \pm 4,83 ^(b;r)	145 \pm 3,3 ^(c;s)
	GL	1040 \pm 14,3 ^(a;r)	866 \pm 22,3 ^(b;r)	676 \pm 7,3 ^(c;r)
	PC	57 \pm 0,68 ^(a;s)	50 \pm 0,64 ^(b;r)	31 \pm 1,5 ^(c;r)
	PG	74 \pm 2,0 ^(a;s)	57 \pm 1,0 ^(b;r)	43 \pm 1,3 ^(c;r)
	PI	95 \pm 0,29 ^(a;s)	79 \pm 0,68 ^(b;r)	48 \pm 0,75 ^(c;s)
	PL	226 \pm 2,4 ^(a;s)	186 \pm 3,9 ^(b;r)	114 \pm 4,9 ^(c;r)
73-30	MGDG	712 \pm 18,0 ^(a;r)	318 \pm 2,6 ^(c;t)	393 \pm 4,4 ^(b;r)
	DGDG	345 \pm 6,3 ^(a;r)	136 \pm 3,9 ^(c;t)	180 \pm 9,0 ^(b;r)
	GL	1057 \pm 22,5 ^(a;r)	453 \pm 3,6 ^(c;t)	573 \pm 6,1 ^(b;r)
	PC	73 \pm 0,29 ^(a;r)	26 \pm 1,3 ^(c;t)	34 \pm 0,78 ^(b;r)
	PG	86 \pm 1,3 ^(a;r)	31 \pm 0,76 ^(c;t)	43 \pm 0,21 ^(b;r)
	PI	118 \pm 2,1 ^(a;r)	46 \pm 1,9 ^(c;t)	60 \pm 0,17 ^(b;r)
	PL	277 \pm 3,2 ^(a;r)	103 \pm 4,2 ^(c;t)	134 \pm 7,4 ^(b;r)
GC 8-35	MGDG	329 \pm 7,4 ^(b;s)	513 \pm 16,4 ^(a;s)	274 \pm 8,8 ^(c;s)
	DGDG	152 \pm 15,29 ^(b;t)	197 \pm 11,26 ^(a;s)	109 \pm 8,5 ^(c;t)
	GL	480 \pm 22,5 ^(b;s)	709 \pm 26,39 ^(a;s)	383 \pm 16,7 ^(c;s)
	PC	33 \pm 1,5 ^(b;t)	44 \pm 2,2 ^(a;s)	24 \pm 1,4 ^(c;s)
	PG	39 \pm 1,4 ^(b;t)	49 \pm 1,2 ^(a;s)	24 \pm 0,46 ^(c;s)
	PI	51 \pm 1,3 ^(b;t)	67 \pm 1,7 ^(a;s)	34 \pm 0,55 ^(c;t)
	PL	122 \pm 5,3 ^(b;t)	160 \pm 2,9 ^(a;s)	82 \pm 2,51 ^(c;t)

os mais baixos teores nas plantas controlo e um incremento dos mesmos em condições de S1, tendo o decréscimo ocorrido apenas em condições de S2.

Estas alterações na quantidade total de lípidos acilo foram o resultados de

alterações similares observadas em PL e GL (Tab. 8.1). Em termos estatísticos, PL e GL foram igualmente afectados, podendo-se dizer o mesmo do MGDG relativamente ao DGDG (Tab. 8.1).

8.4 DISCUSSÃO

De acordo com vários autores (Ferrari-Iliou *et al.* 1984, Maroti *et al.* 1984, Crowe *et al.* 1987, Zuily-Fodil *et al.* 1990), a afectação das membranas, através de processos tais como a degradação dos lípidos, constitui, ao nível celular, um dos aspectos mais peculiares das plantas que vivem em condições de seca. Por isso a capacidade das plantas para protegerem as suas membranas, em condições de “stress” hídrico é fundamental para a sua sobrevivência. A fuga de electrólitos tem sido amplamente utilizada como medida do grau de danificação das membranas e, por isso, como critério para a avaliação da tolerância à seca, pois permite classificar os génotipos em relação à sua resistência protoplasmática à seca (Dhindsa e Mattowe 1981, Premachandra e Shimida 1988, Zuily-Fodil *et al.* 1990, Earnshaw 1993, Campos 1998).

Os resultados obtidos mostraram que a seca, imposta pelo PEG, provocou danos nas membranas celulares, como já tinha sido verificado anteriormente em outros trabalhos (Premachandra e Shimida 1987b, 1988, Zuily-Fodil *et al.* 1990) e que as cvs. apresentaram diferenças relativamente à integridade das suas membranas em condições de seca. A fuga de electrólitos foi maior na cv. 73-30 do que nas outras duas cvs. Quanto maior for esta, maior é o grau dos danos membranares e portanto menor será a estabilidade das membranas. Consequentemente, pode-se inferir dos mesmos que as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram fortes evidências de terem, desenvolvidas em mais alto grau, características relacionadas com a estratégia do “drought tolerance”, o que vem na linha do que a este respeito se disse no Capítulo 3. Contudo, nenhuma

característica, por si só, serve de critério para a selecção. Daí a necessidade de correlacionar os resultados obtidos em relação à estabilidade das membranas com outros parâmetros geralmente associados à estratégia do “drought tolerance”, nomeadamente estabilidade do aparelho fotossintético e dos lípidos.

A estabilidade da A_{max} é também utilizada como critério de tolerância à seca. Os resultados mostraram que este parâmetro decresceu em todas as cvs., facto que vai ao encontro dos resultados anteriormente obtidos por Kaiser (1987_a) and Kaiser (1987_b), para condições de seca severa. Tendo em atenção estes resultados, pode-se inferir que o aparelho fotossintético da cv. 57-422 é mais resistente à seca que o das outras duas cvs. Contudo, o assunto não se esbate aqui, pois, segundo Dhindsa e Mattowe (1981) e Price *et al.* (1991), o aumento da permeabilidade celular e o decréscimo da A_{max} constituem apenas a parte visível do “iceberg”, na medida em que subjacente àqueles processos estão um conjunto de eventos ao nível celular, de entre os quais a alteração dos lípidos acilo das membranas tilacoidais é apenas um exemplo.

Os lípidos têm um papel importante na determinação das propriedades fisiológicas e biológicas das membranas celulares (Raison 1980, Gronewald *et al.* 1982). Apesar de o decréscimo na quantidade dos lípidos acilo, como resposta à seca, ser considerado um fenómeno de ocorrência normal, depende de vários factores, nomeadamente do genótipo, nível de “stress” hídrico e condições de crescimento (Naviro-Izzo *et al.* 1990, 1993a, Zúñiga *et al.* 1990). A resposta das plantas em condições de S1 é fundamental para a sua capacidade de sobreviver em condições de seca e condiciona o seu grau de “drought tolerance”, já que, em condições de S2, mesmo genótipos mais tolerantes são também afectados.

Nesta óptica, os resultados obtidos sugerem que a cv. 57-422 é uma “drought tolerant”, na medida em que mostrou, relativamente à cv. 73-30, elevada estabilidade

em termos da quantidade total de lípidos acilos, em condições de S1, comportamento anteriormente observado nas “drought tolerants” *Haberlea rhodopensis* e *Ramonda serbica* (Stefanov *et al.* 1992a) e ainda em cvs. resistentes de *Vigna unguiculata* (Pham Thi *et al.* 1990).

Em relação à GC 8-35, o seu comportamento como “drought tolerant” assenta no facto de ter apresentado, em condições de S1, um significativo aumento na quantidade total de lípidos acilo e, por conseguinte, uma elevada capacidade para preservar a integridade das membranas em condições de seca, como foi também observado em genótipos resistentes de *Hordeum vulgare* (Zúñiga *et al.*, 1990) e *Vigna unguiculata* (Pham Thi *et al.* 1990). Quanto à cv. 73-30, a sua elevada quantidade de lípidos acilo e o acentuado decréscimo destes e de GL, em condições de S1, têm sido referidas como características dos genótipos menos tolerantes (Navari-Izzo *et al.* 1989,1990, Pham Thi *et al.* 1990, Hubac *et al.* 1989).

Embora se tivesse verificado uma pequena tendência para uma maior sensibilidade dos PL, em termos estatísticos, estes lípidos assim como os GL foram igualmente afectados. Resultados semelhantes foram anteriormente observados em *Triticum durum* (Navari-Izzo *et al.* 1993). O decréscimo conjunto dos PL e GL causa distúrbios ao normal desenvolvimento das plantas que se desenvolvem em condições de seca, pois de acordo com Navari-Izzo *et al.* (1990) e Pham Thi *et al.* (1990), as enzimas hidrolíticas responsáveis pela sua degradação conduzem à produção de ácidos gordos livres (FFA), os quais inibem a fotoactividade dos cloroplastos. Este facto pode servir para explicar o decréscimo da actividade fotossintética que se observa, nas cvs. de amendoim aqui estudadas, em condições de seca. O consequente aumento dos FFA e da razão molar FFA/PL pode desestabilizar as membranas (Seneratna *et al.* 1984, Navari-Izzo *et al.* 1990, Navari-Izzo *et al.* 1993a).

8.5 CONCLUSÕES

À guisa de conclusão pode-se dizer que os dados obtidos mostraram a existência de uma associação positiva entre a estabilidade dos lípidos acilo e a integridade das membranas em todas as cvs. estudadas. Efectivamente, os menores danos das membranas foram observados na cvs. GC 8-35 e 57-422, as quais apresentaram uma maior estabilidade dos lípidos em termos de quantidade total e conseqüentemente uma maior capacidade para preservar a integridade das suas membranas. Pelo contrário, a cv. 73-30, cujos lípidos foram os mais afectados, apresentou também a maior fuga de electrólitos. A cv. GC 8-35, embora tenha revelado uma elevada estabilidade membranar, como foi acima referido, apresentou os maiores decréscimos da A_{max} . Por isso, uma relação positiva entre a estabilidade da concentração de lípidos, integridade das membranas e actividade fotossintética foi, apenas, verificada nas cvs. 57-422 e 73-30. Portanto, não o foi na cv. GC 8-35, como também não o foi em trabalhos anteriores com *Lupinus albus* L. (Meyer *et al.* 1992). De acordo com estes autores, o decréscimo da actividade fotossintética não terá sido uma consequência de danos ocorridos nas membranas, provocados pela alteração do teor e da composição dos lípidos, mas antes o resultado da destruição ou inactivação de ATPases, através da alteração de pontos específicos da ligação dos lípidos às enzimas, o que poderá também constituir uma hipótese para o caso da cv. GC 8-35.

8.6 BIBLIOGRAFIA

- Anderson J.M. 1986. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 93-125.
- Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

- Cachorro A.D. & Cerda A. 1993. Effects of saline stress and calcium on lipid composition in bean roots. *Phytochem.* 32: 1131-1136.
- Campos P.S. 1998 Effects of water stress on photosynthetic performance and membrane integrity in *Vigna spp.* Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia e Bioquímica). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Crowe J.H., Crowe L.M., Carpenter J.F. & Aurell W. 1987. Stabilization of dry phospholipid bilayers and protein by sugars. *Bioc. J.* 242: 1-10.
- Dhindsa R.S. & Mattowe W. 1981. Drought tolerance in two mosses correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 32: 79-91.
- Droppa M., Masojidek J., Rózsa Z., Wolak A., Horváth L., Farkas T. & Horváth G. 1987. Characteristics of Cu deficiency-induced inhibition of photosynthesis electron transport in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 891: 75-84.
- Earnshaw W.J. 1993. Stress indicators: electrolyte leakage. In *Methods in Comparative Plant Ecology. A Laboratory Manual* (G.A.F Hendry, e J.P. Grime, eds.), pp. 152-154. Chapman & Hall, London, England.
- Ferrari-Iliou r., Pham Thi A.T. & Vieira da Silva J. 1984. Effect of water stress on the lipid and fatty acid composition of cotton (*Gossypium hirsutum*) chloroplasts. *Physiol. Plant* 62: 219-224.
- Gombos Z., Wada H., Hideg E. & Murata N. 1994. The unsaturation of membrane lipids stabilises photosynthesis against heat stress. *Plant Physiol.* 104: 563-567.
- Gronewald J.W., Abou-Khalil W., Weber E.J. & Hanson J. 1982. Lipid composition of plasma membrane enriched fraction of maize roots. *Phytochem.* 21: 859-862.
- Harwood J.L. 1980. Plant acyl lipids: structure, distribution, and analysis. In *The*

Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise, Vol.4, (P.K. Stumpf e E.E. Conn, eds.), pp. 2-48. Academic Press, New York, USA.

Hubac C., Guerrier D., Ferran J. & Trémolières A. 1989. Change of lipid composition during water stress on two genotypes resistant or susceptible to drought. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 737-744.

Jacquinet L., Forget M. & Edah K.A. 1981. Resistance a la transpiration chez le riz pluvial (*Oryza sativa*). Étude d'un test de criblage varietal. *Agron. Trop.* 36: 247-252.

Kaiser W.M. 1987a. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.

Kaiser W.M. 1987b. Non-stomatal, primary dehydration effects on photosynthesis: possible mechanisms for reversible and irreversible damage. *Current Topics Plant Biochem. Physiol.* 6: 119-133.

Kramer P.J. 1983. Water relations of plants. Academic Press, New York, USA.

Kriedmann P.E. 1986. Stomatal and photosynthetic limitation to leaf growth. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 15-31.

Lawlor D.W. & Uprety D.C. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crops and the biochemical mechanism. In *Photosynthesis: photoreaction to plant productivity* (Y.P. Abrol, P. Mothany e Govinjee, eds.), pp.421-445. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

LI S., Huguet J.G., Schooch P.G. & Bussi C. 1990. Réponse de jeunes pêchers cultivés en pots à différents régimes d'alimentation hydrique. II. Effects sur la croissance et développement. *Agronomie* 10: 353-360.

Lidon F.J.C. 1993. Efeito do excesso de cobre em plantas de arroz. Aspectos bioquímicos, fisiológicos e ultraestruturais. Tese de Doutorado em Bioquímica

vegetal. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Maroti I., Tuba Z. & Csik M. 1984. Change in chloroplast ultrastructure and carbohydrate level in *Festuca*, *Achillea* and *Sedum* during drought and recovery. *J. Plant Physiol.* 116: 1-10.

Meyer S., Hung S.P.N., Trémolières A. & Kouchkovsky Y. 1992. Energy coupling, membrane lipids and structure of thylakoids of Lupin plants submitted to water stress. *Photosynth. Res.* 33: 95-107.

Navari-Izzo F., Quartacci M.F. & Izzo R. 1989. Lipid changes in maize seedlings in response to field water deficit. *J. Exp. Bot.* 40: 675-680.

Navari-Izzo F., Vangioni N. & Quartacci M.F. 1990. Lipids of soybean and sunflower seedlings grown under drought conditions. *Phytochem.* 29: 2119-2123.

Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Melfi D. & Izzo R. 1993a. Lipid composition of plasma membranes isolated from sunflower seedlings grown under water stress. *Physiol. Plant.* 87: 508-514

Navari-Izzo F., Milone M.T.A., Quartacci M.F. & Pinzino C. 1993b. Metabolic changes in wheat plants subjected to water-deficit stress programme. *Plant Sci.* 92: 151-157.

Navari-Izzo F., Ricci F., Vazzana C. & Quartacci M.F. 1995. Unusual composition of thylakoid membranes of the resurrection plant *Boea hygroskopica*: changes in lipids upon dehydration and rehydration. *Physiol. Plant.* 94: 135-142.

Pham Thi A.T., Vieira da Silva J. & Mazliak P. 1990. The role of membrane lipids in drought resistance of plants. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 137, 99-114.

Premachandra G.S. & Shimada T. 1987a. The measurement of cell membrane stability

- using Polyethylene Glycol as a drought tolerance test in wheat. *Japan. J. Crop Sci.* 56: 92-98.
- Premachandra G.S. & Shimada T. 1987b. Measurement of drought tolerance in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). I. Polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability. *J. Japan. Soc. of Grassland Sci.* 33: 140-147.
- Premachandra G.S. & Shimada T. 1988. Evaluation of polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability as a drought tolerance test in wheat. *J. Agric. Camb.* 110: 2000-2005.
- Price A.H. & Hendry G.A.F. 1991. Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environm.* 14: 477-484.
- Raison J.K. 1980. Membrane lipids: structure and function. In *The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise, Vol.4*, (P.K. Stumpf e E.E Conn, eds.), pp. 57-81. Academic Press, New York, USA.
- Ramalho J.D.C. 1998. Nitrogen-dependent photoprotection mechanisms against photoinhibition in *Coffea arabica* cv. Catuaí. Tese de Doutorado em Fisiologia e Bioquímica Vegetal. Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Seneratna T., McKersie B. & Stinson R.H. 1984. Association between membrane phase properties and dehydration in soybean axes. *Plant Physiol.* 76: 759-762.
- Stefanov K., Markovska Y., Kimenov G. & Popov S. 1992a. Lipid and sterol changes in leaves of *Haberlea rhodopensis* and *Ramonda serbica* at transition from biosis into anabiosis and vice versa caused by water stress. *Phytochem.* 31: 2309-2314.
- Stefanov K., Popova I., Nikolova-Damyanova B., Kimenov G. & Popov S. 1992b. Lipid

and sterol changes in *Phaseolus vulgaris* caused by lead ions. *Phytochem.* 31: 3745-3748.

Vasquez-Tello A., Zuily-Fodil Y., Pham Thi A.T. & Vieira da Silva J.B. 1990. Electrolyte and Pi leakage and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *J. Exp. Bot.* 41: 827-832.

Vu J.C., Allen L.H. & Bowes G. 1987. Drought stress and elevated CO₂ effects on soybean ribulose biphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiol.* 83: 375-378.

Webb M.S. & Green B. 1991. Biochemical and biophysical properties of thylakoid acyl lipids. *Biochim Biophys. Acta* 1060: 133-158.

Zuily-Fodil Y., Vazquez-Tello A. & Vieira da Silva J. 1990. Effect of water deficit on cell permeability and on chloroplast integrity. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 137: 115-123.

Zúñiga G.E., Fernandez J., Cristi R., Alberdi M. & Corcuera L.J. 1990. Lipid changes in barley seedlings subjected to water and cold stress. *Phytochem.* 29: 3087-3090.

CAPÍTULO 9

TROCAS GASOSAS, ACTIVIDADE DOS FOTOSSISTEMAS E DA RUBISCO APÓS A REIDRATAÇÃO

9.1 INTRODUÇÃO

A compreensão de como o “stress” hídrico afecta a fotossíntese é fundamental para a identificação dos mecanismos de resistência e apoio aos trabalhos de selecção. Em muitas situações a seca é intermitente, sendo por isso importante compreender, não só as respostas das plantas enquanto sujeitas ao “stress”, mas também as suas respostas após a reidratação.

De acordo com Busolo-Bulafu (1990) e Deltoro *et al.* (1998), o retomar das actividades fisiológicas, após uma exposição mais ou menos prolongada aos efeitos da seca de intensidade variável, constitui uma questão de suma importância para a sobrevivência e para a produtividade das plantas que habitam locais onde este “stress” ambiental ocorre. Nesta perspectiva, o nível ao qual a actividade fotossintética é mantida durante o período de

seca e a capacidade de recuperação deste processo após a reidratação são importantes para a produtividade e sobrevivência em condições de seca e, de acordo com vários autores (Kriedemann e Downton 1981, Lopez *et al.* 1988, Gummuluru *et al.* 1989), constituem, analisados como um todo, um critério importante para a selecção em relação à resistência das plantas à seca. O objectivo deste capítulo foi o de pesquisar, ao nível das componentes estomática e mesofilica da fotossíntese, diferenças varietais em relação à capacidade para suportar desidratações severas e recuperar após a reidratação.

9.2 MATERIAL E MÉTODOS

9.2.1 Condições gerais de crescimento, imposição da seca e reidratação das plantas

As condições gerais do ensaio já foram descritas no Capítulo 2. A seca foi imposta por suspensão da rega, e as plantas só voltaram a ser regadas quando apresentaram sintomas de desidratação. As medições foram realizadas em 5 períodos: 2 dias após a rega, plantas testemunha (tratamento C), no fim do ciclo de seca, RWC \approx 45-55% (tratamento S2) e 1, 3 e 4 dias após a reidratação, (tratamentos R₁, R₂ e R₃, respectivamente).

9.2.2 Determinação do teor hídrico relativo e das trocas gasosas

As determinações do RWC e das trocas gasosas foram realizadas conforme foi descrito no Capítulo 2.

9.2.4 Determinação da actividade dos fotossistemas, da actividade da rubisco e do teor de clorofila

As determinações da actividade dos fotossistemas (reacções de Hill e Mehler), da

rubisco e do teor de clorofila foram realizadas conforme o descrito nos Capítulos 5 e 6.

9.3. RESULTADOS

9.3.1 Efeitos da seca sobre o estado hídrico e as trocas gasosas das plantas

As cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram, quando bem hidratadas, os valores mais elevados de g_s , T_r , P_n e WUE_i (Tab. 9.1). Pelo contrário, estas duas cvs., nestas condições hídricas, apresentaram os valores mais baixos de Δ_t (diferença entre a temperatura foliar e a temperatura ambiente).

No final do ciclo de seca, o RWC de todas cvs. decresceu significativamente, tendo as plantas atingido níveis severos de desidratação (Tab. 9.1). Em relação à g_s , verificou-se um significativo decréscimo em todas as cvs., sendo as cvs. 57-422 e GC 8-35 as mais afectadas. Igual comportamento foi verificado em relação à T_r e à P_n . Apesar disto, é possível verificar também que a P_n foi muito mais afectada do que a T_r , principalmente na cv. GC 8-35 (Tab. 9.1). Condições de S2 conduziram também ao decréscimo da WUE_i , particularmente acentuado na cv. GC 8-35. Em todas as cvs., a T_f aumentou, enquanto que C_i decresceu, suavemente na cv. GC 8-35 e manteve-se constante nas cvs. 57-422 e 73-30.

Nas plantas controlo, os valores mais elevados da A_{max} ocorreram nas cvs. 57-422 e GC 8-35 (Tab. 9.2). Nestas condições hídricas, os valores da razão A_{max}/P_n foram de 2,1, 3,3 e 3,1, respectivamente nas cvs. 57-422, 73-30 e GC 8-35. Em condições de S2, verificou-se uma forte afectação da A_{max} , tendo os decréscimos sido mais acentuados na cv. GC 8-35. Por sua vez, a razão A_{max}/P_n aumentou substancialmente em todas as cvs., tendo atingido valores de 10,8, 5,3 e 9,5, respectivamente nas cvs. 57-422, 73-30 e GC 8-35.

Tab. 9.1 Valores do teor hídrico relativo (RWC, %), condutância estomática (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (P_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), transpiração (T_r , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i , ppm), diferença entre a temperatura foliar e a temperatura ambiente (Δ_t , $^\circ\text{C}$) e eficiência instantânea do uso da água (WUE_i , P_n/T_r), em condições de boa disponibilidade hídrica (C), em condições de seca (S2), 1 e 3 dias após a reidratação em cvs. de amendoim. Cada valor representa a média \pm SE ($n=5$). As letras *a*, *b*, *c* e *d* representam diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.		Dias após a reidratação			
		C	S2	1	3
57-422	RWC	94	45-55	95	94
	g_s	549 ± 12 (a,r)	36 ± 4 (c,s)	91 ± 9 (b,s)	105 ± 21 (b,t)
	P_n	$16,2 \pm 0,9$ (a,r)	$0,8 \pm 0,01$ (c,s)	$7,4 \pm 0,2$ (b,s)	$16,1 \pm 1,7$ (a,r)
	T_r	$6,2 \pm 0,2$ (a,r)	$0,7 \pm 0,01$ (c,t)	$5,5 \pm 0,06$ (b,s)	$4,7 \pm 0,7$ (b,s)
	C_i	296 ± 1 (a,r)	272 ± 14 (a,s)	235 ± 1 (b,t)	214 ± 8 (b,t)
	Δ_t	$-2,5 \pm 0,1$ (c,s)	$2,9 \pm 0,03$ (a,r)	$0,7 \pm 0,1$ (b,r)	$0,5 \pm 0,0$ (b,r)
	WUE_i	$2,7 \pm 0,0$ (a,r)	$1,3 \pm 0,03$ (c,r)	$1,5 \pm 0,01$ (c,r)	$3,4 \pm 0,02$ (a,r)
73-30	RWC	93	45-55	95	94
	g_s	255 ± 32 (b,c)	100 ± 0 (c,r)	337 ± 52 (a,r)	375 ± 37 (a,s)
	P_n	$9,0 \pm 0,1$ (b,r)	$1,2 \pm 0,0$ (a,r)	$6,1 \pm 0,2$ (c,t)	$14 \pm 0,3$ (a,s)
	T_r	$5,0 \pm 0,04$ (b,s)	$2,6 \pm 0,02$ (c,r)	$9,1 \pm 0,4$ (a,r)	$9,2 \pm 0,04$ (a,r)
	C_i	289 ± 2 (a,s)	287 ± 2 (a,r)	285 ± 9 (a,r)	282 ± 7 (a,r)
	Δ_t	$-0,7 \pm 0,0$ (b,r)	$2,6 \pm 0,0$ (a,r)	$-0,7 \pm 0,03$ (b,s)	$-1,2 \pm 0,0$ (a,r)
	WUE_i	$1,8 \pm 0,3$ (a,s)	$0,9 \pm 0,02$ (b,s)	$0,7 \pm 0,01$ (b,s)	$1,5 \pm 0,0$ (a,s)
GC 8-35	RWC	93	45-55	94	93
	g_s	454 ± 19 (a,s)	32 ± 2 (c,s)	304 ± 21 (b,r)	453 ± 120 (a,r)
	P_n	$13,0 \pm 0,4$ (b,s)	$0,5 \pm 0,0$ (d,s)	$8,8 \pm 0,07$ (c,r)	$18 \pm 3,0$ (a,r)
	T_r	$6,0 \pm 0,1$ (c,r)	$1,5 \pm 0,02$ (c,s)	$10,6 \pm 0,05$ (a,r)	$11 \pm 2,0$ (a,r)
	C_i	299 ± 1 (a,r)	266 ± 14 (b,s)	261 ± 0 (b,s)	258 ± 2 (b,s)
	Δ_t	$-2,0 \pm 0,1$ (c,s)	$2,8 \pm 0,01$ (a,r)	$-1,0 \pm 0,05$ (b,s)	$-0,9 \pm 0,06$ (b,s)
	WUE_i	$2,2 \pm 0,1$ (a,s)	$0,3 \pm 0,0$ (c,t)	$0,8 \pm 0,0$ (d,s)	$1,7 \pm 0,0$ (b,s)

9.3.2 Efeitos do “stress” hídrico sobre no transporte de electrões e na actividade da rubisco

Em relação ao transporte de electrões (Tab. 9.2), verificou-se que, no controlo, a cv.

57-422 apresentou, relativamente à reacção H₂O-DCPIP, as maiores taxas. Relativamente

Tab. 9.2. Valores do teor hídrico relativo (RWC, %), capacidade fotossintética ($A_{\text{máx}}$, $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), actividade da rubisco ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), das reacções H₂O-DCPIP, DCP-DCPIP e DCPIPH₂-MV ($\text{mmol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ Chl s}^{-1}$), em condições de boa disponibilidade hídrica (C), em condições de seca (S2), 1, 3 e 4 dias após a reidratação em cvs. de amendoim. Cada valor representa a média \pm SE (n=5). As letras *a*, *b*, *c*, *d* e *e* representam diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que as letras *r*, *s* e *t* representam diferenças significativas entre as cvs. em cada tratamento.

Cv.		Dias após a reidratação				
		C	S2	1	3	4
57-422	RWC	94	45-55	95	95	93
	$A_{\text{máx}}$	34 \pm 2,1 (b,r)	11 \pm 1,2 (c,r)	-	37 \pm 1 (b,r)	42 \pm 4 (a,r)
	Rubisco	78 \pm 6 (b,r)	44 \pm 3 (c,r)	96 \pm 4 (a,s)	-	-
	H₂O-DCPIP	6,4 \pm 0,3 (b,r)	4,2 \pm 0,4 (d,r)	6 \pm 0,3 (b,r)	19 \pm 1,7 (a,s)	25 \pm 4,3 (a,r)
	DCP-DCPIP	32 \pm 1 (c,r)	5,6 \pm 1 (e,s)	25 \pm 1 (d,s)	55 \pm 4 (b,r)	81 \pm 4 (a,r)
	DCPIPH₂-MV	98 \pm 8 (c,s)	102 \pm 5 (c,r)	197 \pm 18 (b,r)	373 \pm 2 (a,r)	384 \pm 9 (a,s)
73-30	RWC	93	45-55	94	94	93
	$A_{\text{máx}}$	29 \pm 0,6 (b,s)	9 \pm 1,7 (d,r)	-	20 \pm 2,7 (c,s)	37,2 \pm 2,6 (a,s)
	Rubisco	53 \pm 2 (b,s)	29 \pm 5 (c,s)	123 \pm 5 (a,r)	-	-
	H₂O-DCPIP	3,5 \pm 1,0 (c,s)	2,8 \pm 0,2 (c,s)	4,5 \pm 0,2 (c,s)	21 \pm 0,6 (b,rs)	27 \pm 1,5 (a,r)
	DCP-DCPIP	14,8 \pm 1 (c,t)	5,1 \pm 0 (d,s)	40 \pm 3 (b,r)	42 \pm 2 (b,s)	64 \pm 3 (a,t)
	DCPIPH₂-MV	86 \pm 2 (c,t)	78 \pm 6 (c,s)	131 \pm 5 (b,t)	356 \pm 2 (a,s)	369 \pm 17 (a,s)
GC 8-35	RWC	94	45-55	95	92	91
	$A_{\text{máx}}$	39 \pm 1 (b,r)	8 \pm 2 (c,rs)	-	38 \pm 4 (b,r)	48 \pm 3 (a,r)
	Rubisco	48 \pm 2 (b,s)	27 \pm 4 (c,s)	97 \pm 3 (a,s)	-	-
	H₂O-DCPIP	3,1 \pm 0,4 (c,s)	2,4 \pm 0,2 (c,s)	5,2 \pm 0,9 (b,rs)	27 \pm 2,0 (a,r)	30 \pm 2,5 (a,r)
	DCP-DCPIP	22 \pm 0 (d,s)	8 \pm 0 (e,r)	40 \pm 1 (c,r)	51 \pm 2 (b,r)	73 \pm 3 (a,s)
	DCPIPH₂-MV	126 \pm 2 (d,r)	76 \pm 7 (e,s)	163 \pm 6 (c,s)	378 \pm 3 (b,r)	415 \pm 18 (a,r)

às reacções DCP-DCPIP e DCPIPH₂-MV, as maiores taxas foram observadas nas cv. 57-422 e GC 8-35.

Na cv. 57-422, em condições de S2, as taxas das reacções associadas ao PSII (H₂O-DCPIP, DCP-DCPIP, principalmente esta última) decresceram acentuadamente, enquanto a

da reacção DCPIPH₂-MV se manteve estável (Tab. 9.2). A cv. 73-30 foi caracterizada pela estabilidade das reacções H₂O-DCPIP e DCPIPH₂-MV e pelo decréscimo nas taxas da reacção DPC-DCPIP. Quanto à cv. GC 8-35, as taxas da reacção H₂O-DCPIP mantiveram-se estáveis, enquanto que as das reacções DPC-DCPIP e DCPIPH₂-MV decresceram (Tab. 9.2).

Em relação à actividade da rubisco, verificou-se que, em condições de boa disponibilidade hídrica, ela foi maior na cv. 57-422, tendo as outras duas cvs. apresentado valores semelhantes. A actividade desta enzima decresceu acentuada e igualmente em todas as cvs. (Tab. 9.2), pelo que, em condições de S2, ela foi também maior na cv. 57-422.

9.3.3 Recuperação do estado hídrico e das trocas gasosas

Como se vê na fotografia 2.4, 24 h após a reidratação, as plantas recuperaram, pelo menos em termos do seu aspecto físico, e deixaram de apresentar os sintomas externos da seca, no caso concreto a marchidão dos folíolos.

Em todas as cvs., o RWC recuperou completamente, 24 h após a rega. Nesta altura já a cv. 73-30 apresentava uma recuperação da g_s , com valores acima dos verificados nas plantas controlo, enquanto que as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram recuperações parciais, as quais representavam 17% e 67% dos respectivos controlos (Tab. 9.1).

A P_n também recuperou mais rapidamente nas cvs. 73-30 e GC 8-35. Nestas cvs., 24 h após a rega, os valores da P_n representavam já 69% e 67 % do controlo, respectivamente, enquanto que na 57-422 representavam apenas 46%. Depois, 3 dias após a rega, verificou-se que a P_n das cvs. 73-30 e GC 8-35 apresentou valores muito superiores aos verificados nas plantas controlo, enquanto que a cv. 57-422 tinha já valores idênticos ao controlo.

Relativamente à WUE_i (Tab. 9.1), verificou-se que, 24 após a reidratação, as cvs. apresentaram uma recuperação parcial, a qual representava 56%, 39% e 35% dos valores do controlo, respectivamente nas cvs. 57-422, 73-30 e GC 8-35. Depois, 3 dias após a rega, verificou-se, na cv. 57-422, uma recuperação para valores superiores aos do controlo, enquanto que as cvs. 73-30 e GC 8-35 tiveram apenas uma recuperação parcial, à volta de 83% e 73% do controlo, respectivamente. A C_i recuperou totalmente apenas nas cv. 73-30, logo nas primeiras 24 h após a rega.

A A_{max} recuperou completamente nas cvs. 57-422 e GC 8-35, 63 h após a reidratação, enquanto que, nessa altura, na cv. 73-30, a recuperação foi apenas parcial, representando 69% do controlo (Tab. 9.2). Também, após a rega, a razão A_{max}/P_n decresceu acentuadamente atingindo valores de 2,3, 1,4 e 2,1, respectivamente nas cvs. 57-422, 73-30 e GC 8-35.

9.3.4 Recuperação da taxas de transporte de electrões e da actividade da rubisco

Verificou-se em todas as cvs., uma rápida e forte recuperação das reacções associadas ao transporte fotossintético de electrões (Tab. 9.2).

Assim, nas cv. 57-422 e 73-30, verificou-se, 24 h após a rega, uma recuperação total da reacção H_2O -DCPIP. Nesta altura a cv. GC 8-35 apresentava já valores acima do controlo. Quanto à reacção DCP-DCPIP, a recuperação para valores acima dos normais ocorreu nas cvs., 73-30 e GC 8-35, nas primeiras 24 h após a rega, enquanto que na cv. 57-422 tal recuperação foi apenas parcial. Também 3 dias depois, esta taxa apresenta em todas as cvs. valores que em muito superam o controlo. Relativamente à reacção $DCPIP_{H_2}$ -MV, a recuperação para valores acima do controlo ocorreu, em todas as cvs., já nas primeiras 24 h após a rega.

A actividade da rubisco recuperou completamente, logo nas primeiras 24 h após a reidratação, em todas as cvs., tendo a recuperação atingido valores superiores aos das plantas controlo. Na recuperação, todas as cvs. apresentaram, relativamente ao controlo, valores muito mais elevados das taxas de transporte de electrões para dado valor da A_{\max} (Tab. 9.2).

9.4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos sugerem que no controlo, as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram os maiores valores de g_s , T_r e de P_n , não se tendo verificado diferenças em relação a C_i . Assim sendo, as diferenças ao nível de g_s não tiveram reflexo em C_i e por consequência, diferenças em relação a este último parâmetro parecem não poder explicar as diferenças verificadas ao nível de P_n .

No controlo, os valores elevados das taxas de actividade dos fotossistemas, da rubisco (cv. 57-422) e da A_{\max} (cvs. 57-422 e GC 8-35) explicam, de certa forma, a ocorrência, nestas cvs., das mais elevadas taxas de P_n . Por outro lado, a cv. 73-30 embora tenha apresentado os valores mais baixos de T_r , apresentou também os mais baixos valores de WUE_i . Tal, resulta do facto de esta cv. ter também apresentado os mais baixos valores de P_n .

Em condições de boa disponibilidade hídrica, os mais elevados valores de A_{\max} foram observados nas cvs. 57-422 e GC 8-35. Os resultados obtidos sugerem que os valores mais altos da A_{\max} resultam das altas taxas verificadas nas reacções H_2O -DCPIP (cv. 57-422), DCP-DCPIP (cvs. 57-422 e GC 8-35), DCPIPH₂-MV (cv. GC 8-35) e actividade da rubisco (cv. 57-422). Nestas condições hídricas, verificaram-se diferenças em relação à razão A_{\max}/P_n , as quais sugerem a existência de diferenças ao nível da g_s e do consumo dos

compostos de carbono recentemente fixados (por exemplo através da respiração e/ou fotorrespiração); de recordar que a razão foi menor na cv. 57-422.

Os decréscimos nas taxas da actividade da rubisco (todas as cvs.) e das reacções H_2O -DCPIP e DCP-DCPIP (cvs. 57-422), DCP-DCPIP e DCPIPH₂-MV (cv. GC 8-35) e DCP-DCPIP (cv.73-30) poderão estar na base dos decréscimos da A_{max} verificados nestas cvs.. O aumento verificado na razão A_{max}/P_n sugere um incremento das actividades de descarboxilação relativamente às de carboxilação e diferenças em relação aos valores de g_s , sendo a cv. 73-30 aquela que apresentou um maior aproveitamento da sua A_{max} .

Em condições de S2, como foi referido, os folíolos de todas as cvs. apresentaram-se completamente murchos. A rápida recuperação do RWC imediatamente após a rega, entretanto observada, e a melhoria do aspecto físico e exterior tiveram implicações muito profundas para as plantas no sentido de retomarem as sua actividades fisiológicas, possibilitado que os parâmetros estudados atingissem níveis iguais ou mesmo superiores aos observados nas plantas controlo.

A recuperação do RWC foi importante para a recuperação da turgidez e, consequentemente, para a reposição da firmeza dos folíolos e da posição dos mesmos em condições adequadas para a captação de luz e CO₂.

Em relação à recuperação de g_s , as cvs. apresentaram dois tipos diferentes de resposta. O primeiro, representado pelas cvs. 73-30 e GC 8-35, é caracterizado pela rápida recuperação de g_s e de T_r . O segundo, representado pela cv. 57-422, caracterizou-se por uma lenta recuperação destes parâmetros, fenómeno muito natural em situações de reidratação, como tem sido referido por vários autores (Mansfield e Davies 1981, Matos *et al.* 1983, Lopez *et al.* 1988, Matos 1990) e que pode ser encarado como um meio utilizado pelas plantas no sentido de se prevenirem contra o risco de nova desidratação. Este

comportamento da cv. 57-422, que pode não ter grande importância em condições de vaso se se tiver o cuidado de humedecer completa e uniformemente o substrato, pode também ser interpretado, de acordo com Mansfield *et al.* (1978), como um meio para melhorar a WUE, partindo do pressuposto de que, em condições naturais, as primeiras chuvas raramente humedecem o solo completamente. Sendo assim um aumento na eficiência do uso desta pequena quantidade de água disponível pode ser benéfico para o crescimento das plantas. Este aumento da WUE é conseguido através do fecho parcial dos estomas. Aliás, como se viu, nesta cv., as plantas em reidratação, uma vez reparados os danos da sua maquinaria fotossintética, atingiram e superaram mais rapidamente, em termos de WUEi as plantas controlo, com iguais taxas de P_n , graças precisamente a fortes restrições no consumo de água.

Como se verificou aqui e em outros trabalhos (Lopez *et al.* 1988, Tuba *et al.* 1994), apesar de o RWC e g_s (excepto na cv. 57-422) terem recuperado completamente, logo após as 24 h subsequentes à reidratação, e por conseguinte estarem aparentemente reunidas todas as condições favoráveis à obtenção de elevadas taxas de P_n , tal não se verificou em nenhuma das cvs. estudadas. A recuperação da hidratação permitirá a recuperação de P_n . No entanto, tal envolve um conjunto de fenómenos metabólicos que têm por finalidade a reorganização e/ou a reactivação das estruturas, o que demora o seu tempo. Com efeito P_n só recuperou completamente em todas as cvs. após a ocorrência de significativas melhorias numa série de processos sub-celulares, como sejam a actividade da rubisco e as taxas das reacções associadas ao PSII e PSI.

A forte recuperação da A_{max} observada nas cvs. 57-422 e GC 8-35 reforça o que se disse anteriormente no que diz respeito ao seu grau de tolerância à seca. Nas cvs. 73-30 (principalmente nesta) e GC 8-35, a P_n recuperou (percentualmente e relativamente ao

controlo) muito mais que a A_{\max} , o que poderá significar que, nestas cvs., durante a reidratação, aconteceu, relativamente às condições de “stress”, um incremento das reacções de carboxilação relativamente às reacções de descarboxilação. Por outro lado, a recuperação das taxas das reacções associadas aos dois fotossistemas foi muito maior que a da A_{\max} . Também, comparativamente ao controlo, as plantas na reidratação apresentaram um maior fluxo de electrões para dado valor da A_{\max} (principalmente na cv. 73-30), o que sugere que, durante, a reidratação uma parte significativa do fluxo de electrões poderá estar a ser desviado, por exemplo para a redução dos nitratos.

A velocidade de recuperação da P_n depende do genótipo, como disto nos dão conta os trabalhos realizados com *Panicum maximum* (Ludlow *et al.* 1980), *Medicago sativa* (Hall e Larson 1982) e *Cajanus cajan* (Lopez *et al.* 1988). Também depende do grau de desidratação atingido no final do ciclo de seca (Kriedemann e Downton 1981) e, de acordo com Moreira *et al.* (1990), assenta as suas bases fisiológicas no equilíbrio entre a necessidade de reconstruir e a de apenas reactivar a maquinaria fotossintética. A excelente recuperação da cv. GC 8-35, após severa afectação durante a seca, confirma de certo modo as indicações fornecidas pela relação entre o RWC e ψ_w (Capítulo 3), o teste do PEG e a estabilidade dos lípidos (Capítulo 8), quanto à sua capacidade para tolerar a seca. A cv. 57-422, que podemos caracterizar como tolerante, recuperou lentamente em termos de P_n . Os dados sugerem que tal não foi devido à lenta recuperação da A_{\max} , já que esta e os seus componentes recuperaram excelentemente, mas antes à lenta recuperação de g_s que poderá ter influenciado negativamente a recuperação de P_n .

As cvs. 73-30 e GC 8-35, que apresentaram na recuperação valores de g_s e de T_r superiores aos das plantas controlo, apresentaram também neste período valores de P_n

superiores aos do controlo. Este facto foi também observado em outros trabalhos (Ludlow *et al.* 1980, Gummuluru *et al.* 1989, Ramalho e Chaves 1992). Ao nível da sobrevivência e da produtividade da cultura, estas elevadas taxas pós-reidratação assumem capital importância, já que podem de certa forma compensar as perdas ocorridas durante o período de seca. Talvez por isso, quando as plantas foram submetidas a ciclos sucessivos de seca, como foi referido no Capítulo 4, a biomassa das cvs. 73-30 e da GC 8-35 não tenha sido significativamente afectada relativamente ao controlo, enquanto que a da cv. 57-422 o foi.

9.5 CONCLUSÕES

O RWC recuperou completamente em todas as cvs., 24 h após a reidratação. A recuperação de g_s e de T_r foi mais rápida nas cvs. 73-30 e GC 8-35. Apesar da recuperação total do RWC ter ocorrido durante as primeiras 24 h, a de P_n ocorreu mais tarde, nalguns casos mesmo depois da completa recuperação de g_s , como por exemplo se observou nas cvs. 73-30 e GC 8-35. Este facto constitui por si só uma indicação de que a seca se fez sentir também através dos efeitos-não estomáticos. A P_n retomou os valores normais após a reparação dos danos ocorridos na maquinaria fotossintética, concretamente, a recuperação das reacções de Hill e Mehler e da actividade da rubisco.

Em todas as cvs., P_n recuperou até atingir valores iguais ou superiores aos das plantas controlo, o que sugere que estas cvs. de amendoim dispuseram de mecanismos capazes de anular os efeitos negativos da seca quando a água lhes foi novamente fornecida. As cvs. 73-30 e GC 8-35, recuperam em fase mais adiantada da reidratação para valores acima do controlo.

Nas cvs. 73-30 (principalmente nesta) e GC 8-35, a P_n recuperou muito mais que a A_{max} . Comparativamente ao controlo, as plantas na reidratação apresentaram um maior

fluxo de electrões para dado valor da A_{\max} (principalmente na cv. 73-30). As cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram uma melhor recuperação da A_{\max} , o que reforça as considerações tecidas nos capítulo anteriores sobre o grau de tolerância à seca destas duas cvs.

9.6 BIBLIOGRAFIA

- Busolo-Bulafu C.M. 1992. Response of groundnut varieties to drought stress at Namulonge Reaserch Station. *In Proceeding of Fifth Regional Groundnut Workshop for Southern Africa* (R.C. Nagswara Rao e Subrahmanyam P., eds.), pp. 81-82. International Crop Reaserch Institute for Semi-Arid Tropics, Lilonge, Malawi.
- Frederick J.R., Alm D.M. & Hesketh J.D. 1989. Leaf photosynthetic rates, stomatal resistance, and internal CO₂ concentration of soybean cultivars under drought stress. *Photosynthetica* 23: 575-584.
- Gummuluru S., Hobbs S.L.A. & Jana S. 1989. Physiological responses of drought tolerant and drought susceptible durum wheat genotypes. *Photosynthetica* 23: 479-485.
- Hall R.G. & Larson K.L. 1982. Water stress of alfafa during stress and recovery. *Can. J. Plant Sci.* 62: 639-647.
- Kriedemann P.E. e Downton J.S. 1981. Photosynthesis. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants.* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 283-314. Academic Press, Sydney, Australia.

- Lopez B.F., Setter T.L. & McDavid C.R. 1987. Carbon dioxide and light responses of photosynthesis in cowpea and pigeonpea during water deficit and recovery. *Plant Physiol.* 85: 990-995.
- Lopez B.F., Setter T.L. & McDavid C.R. 1988. Photosynthesis and water vapour exchange of pigeonpea leaves in response to water deficit and recovery. *Crop Sci.* 28: 141-145.
- Ludlow M.M., Ng T.T. & Ford C.W. 1980. Recovery after water stress of leaf gas exchange in *Panicum maximum* var. *trichoglume*. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 299-313.
- Mansfield T.A. 1976. Delay in response of stomata to abscisic acid in CO₂-free air. *J. Exp. Bot.* 27: 559-564.
- Mansfield T.A. e Davies W. J. 1981 Stomata and stomatal mechanisms. In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 315-344. Academic Press, Australia.
- Matos M.C., Nunes M.A. & Dias J. 1983. A oportunidade da rega. Estudos sobre índices fisiológicos. Estação Nacional de Fruticultura Vieira da Natividade e Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola, Alcobaça, Portugal.
- Matos M.C. 1990. Economia da água da macieira. Aspectos fisiológicos e aplicação ao controlo da rega. Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia Vegetal). Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Moreira T., Henriques F.S., Matos M.C. & Campos P. 1990. Protoplasmic drought resistance and water use efficiency. - *Bull. Soc. Bot. Franc.* 137: 81-89.

Ramalho J.D. & Chaves M.M. 1992. Drought effects on plant water relations and carbon gain in two lines of *Lupinus albus* L. *Eur. J. Agron.* 1: 271-280.

Tuba Z., Lichtenthaler H.K., Csintalan Z., Nagy Z. & Szente K. 1994. Reconstitution of chlorophylls and photosynthetic CO₂ assimilation upon rehydration of desiccated poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* (Pax) Th. Dur. et Schinz. *Planta* 192: 414-420.

CONCLUSÕES GERAIS

Em relação aos aspectos ontogénicos, verificou-se que, numa primeira fase do ciclo cultural, as cvs. privilegiaram o crescimento das raízes e folhas. A cv. 57-422 diferenciou-se das outras duas por ter apresentado, de uma forma geral, ao longo do ciclo cultural uma maior produção de biomassa total, uma grande parte dela representada pela biomassa foliar e caulinar, facto que lhe permite em condições de campo actuar como uma “mulching crop” devido a maior cobertura do solo. Em termos fenológicos, as cvs. 73-30 e GC 8-35 (principalmente esta) revelaram ser mais precoces que a cv. 57-422. Em termos morfológicos é de ressaltar o facto de, em todas as cvs. estudadas, os estomas estarem, em maior quantidade, na página adaxial (a que fica mais protegida dos raios solares nos períodos de “stress” luminoso e hídrico e de coloração mais escura) do que na página abaxial, a de cor esbranquiçada e a mais exposta aos raios solares nos já referidos períodos de “stress”. A maior densidade estomática verificou-se na cv. 57-422, enquanto que a menor densidade estomática verificou-se na cv. GC 8-35. Nem sempre a maior densidade estomática correspondeu a uma

maior taxa transpiratória. Com efeito, em condições normais, os menores valores de g_s ocorreram na página adaxial e a cv. 73-30 apresentou os mais baixos valores de g_s .

Condições de seca moderada provocaram alterações ao nível do crescimento das plantas. As cvs. 73-30 e GC 8-35 apresentaram em condições de plena disponibilidade hídrica as menores taxas de crescimento e também as menores produções de matéria seca. Por outro lado, nestas duas cvs., tais índices de crescimento não foram significativamente afectados pela seca. Alicerçada nos factores de capacidade (maior área foliar e elevada LAR) e nos factores de eficiência (maior NAR), a estratégia da cv. 57-422 consistiu em crescer de forma exuberante enquanto houve água em abundância e restringir fortemente o crescimento quando ela escasseou, mesmo assim apresentou uma maior produção de biomassa.

A seca modificou o padrão normal da partição da biomassa, facto que se reflectiu no aumento da razão raiz/parte aérea. Na cv. 57-422, esta razão aumentou, pelo facto de a biomassa da parte aérea ter sofrido fortes decréscimos. Na 73-30 esse aumento foi devido à conjugação de aumentos da biomassa radicular e decréscimos da parte aérea, enquanto que a GC 8-35 consegue-o aumentado significativamente a biomassa radicular e alterando relativamente pouco a parte aérea. De uma forma geral, o decréscimo da parte aérea deveu-se essencialmente mais ao decréscimo da biomassa foliar, do que da biomassa caulinar, facto muito evidente na cv. 57-422. Assim sendo, a cv. GC 8-35 parece ser a que apresentou o melhor ajuste da razão raiz/parte aérea, pois aumentou a capacidade de absorver água sem que contudo tenha prejudicado de forma significativa as dimensões do aparelho assimilador.

Em condições de plena disponibilidade hídricas a cv. 57-422 apresentou os maiores valores de WUE, pois, apesar dos elevados consumos de água, produziu muito mais matéria seca, enquanto que a cv. GC 8-35 apresentou os menores valores (como resultado de elevados consumos de água associados a baixas produções de biomassa). A cv. 73-30 conjugou baixos

consumos de água com baixas produções de biomassa, daí a sua posição intermédia. Em condições de seca, verificou-se, em todas as cvs. estudadas, um aumento da WUE, significativo apenas para as cvs. 57-422 e GC 8-35. Nestas condições hídricas, a cv. 57-422 apresentou, relativamente às outras duas as quais não apresentaram diferenças significativas entre si, os maiores valores de WUE. A cv. 57-422 aumentou a WUE, através de restrições drásticas no consumo de água e na produção de matéria seca (ainda que menos drásticas). Na cv. GC 8-35 tal aumento resultou de redução significativa no consumo de água, já que a produção de biomassa não foi significativamente alterada. A cv. 73-30 praticamente mantém os níveis de biomassa e de consumo de água, daí a variação não significativa da WUE quando em condições de seca.

Em termos de conservação de água, a cv. 73-30 manteve-se por mais tempo melhor hidratada que as outras duas cvs.. Isto devido aos seus mais baixos valores iniciais de g_s e de T_r (este último medido tanto pelo método gravimétrico, como pelo método porométrico). A sua caracterização como “avoider” é reforçada, por ter apresentado, entre outros atributos, uma menor taxa de transpiração acumulada, um mais elevado teor hídrico relativo no encerramento estomático e um menor decréscimo de ψ_w . O “drought tolerance” das cvs. 57-422 e GC 8-35 assenta no facto de terem apresentado menor fuga de electrólitos, maior estabilidade da concentração dos lípidos, maior queda do ψ_w e uma melhor recuperação da A_{max} .

Relativamente às trocas gasosas, as cvs. 57-422 e GC 8-35 apresentaram em condições de plena disponibilidade hídrica os mais elevados valores de A_{max} , P_n , g_s e T_r . A P_n decresceu quer devido aos efeitos estomáticos quer devido aos efeitos não-estomáticos. Em relação aos efeitos estomáticos, as cvs. apresentaram duas estratégias diferentes. A protagonizada pela cv. 73-30, caracterizada por baixos valores de g_s e de P_n , mesmo em condições de boa disponibilidade hídrica e decréscimos suaves destes parâmetros ao longo do ciclo de

desidratação, e a protagonizada pelas cvs. GC 8-35 e 57-422, caracterizada por elevados valores de g_s e de P_n em condições de plena disponibilidade hídrica e por acentuados decréscimos destes parâmetros em condições de seca. Ainda assim, estas cvs. apresentaram, em condições de seca moderada, taxas transpiratórias e fotossintéticas mais elevadas do que as exibidas pela cv. 73-30. Quanto aos efeitos não-estomáticos, verificou-se, em todas as cvs., um decréscimo da A_{max} em condições de seca. Na cv. GC 8-35 o decréscimo já se observava a valores de RWC ainda elevados, enquanto que nas outras duas cvs. A_{max} decresceu mais tarde.

A seca provocou em todas as cvs. uma inibição na actividade da cadeia de transporte de electrões. O PSII revelou ser o principal alvo da seca, enquanto que o PSI apresentou uma grande estabilidade. Este fotossistema só foi significativamente afectado pela seca na cv. GC 8-35. Em todas as cvs. estudadas, a actividade da rubisco sofreu um estímulo em condições de S1, só sendo afectada em condições de S2. Portanto, em condições de S1, a afectação da maquinaria fotossintética não deverá ser atribuída a alterações na actividade desta enzima, mas antes ser imputada a inibições ao nível do transporte de electrões, particularmente, ao nível do PSII. Em condições de S2, já é de considerar a influência negativa da inibição da actividade da rubisco no decréscimo da actividade da maquinaria fotossintética.

A cv. GC 8-35 assemelhou-se com a 57-422, pelo facto de ter mantido, em condições de S1, a fluorescência basal (F_0) inalterada. Por outro lado, diferiu dela e assemelhou-se com a 73-30 por ter apresentado já nessas condições hídricas decréscimos significativos na razão entre a fluorescência variável (F_v) e a fluorescência máxima (F_m) - razão F_v/F_m -, que se acentuaram em condições de S2, e aqui associados a fortes aumentos de F_0 . Nas cvs. 73-30 e GC 8-35, a afectação da eficiência do PSII ocorreu já em condições de S1, enquanto que na 57-422 tal ocorreu apenas em condições de S2.

O ciclo de dissipação de energia envolvendo o PSII parece só ter sido importante na cv. 73-30 e mesmo assim apenas em condições de S1. Relativamente ao ciclo envolvendo o PSI, a cv. GC 8-35 diferiu das outras duas, pois este ciclo parece já ter sido significativamente afectado em condições de S1 e portanto não deve ter tido papel de relevo na dissipação de energia nessa cv.. Este ciclo pode ter sido importante na 57-422, pelo menos em condições de S1. Por seu lado, a cv. 73-30 foi a única em que a reacção de Mehler e a concentração dos cit do complexo *b/f* foram significativamente estimulados (em condições de S1) e portanto a única em que o ciclo em torno do PSI deve ter sido fundamental para a dissipação do excesso de energia.

A recuperação de g_s e de T_r foi mais rápida nas cvs. 73-30 e GC 8-35 do que na cv. 57-422, o que pode ajudar explicar o forte decréscimo no consumo de água quando as plantas desta última cv. foram submetidas a ciclos sucessivos de seca. O RWC recuperou completamente em todas as cvs., 24 h após a reidratação. Nesta altura verificou-se, relativamente à taxa de transporte de electrões e à actividade da rubisco, uma recuperação para valores acima do controlo. Porém, a fotossíntese líquida recuperou mais tarde, tendo-se verificado valores acima dos normais nas cvs. 73-30 e GC 8-35. Talvez por isso, relativamente ao controlo, a biomassa das cvs. 73-30 e da GC 8-35 não tenha sido significativamente afectada, quando as plantas foram submetidas a ciclos sucessivos de seca, como foi referido anteriormente.

BIBLIOGRAFIA GERAL

Ahamadi N. & Puard M. 1984. Comportements hydriques de deux types variétaux de riz à l'égard des potentiels décroissants de l'eau dans le milieu nutritif. *L'Agronomie Tropicale* 39: 236-242.

Anderson J.M. 1986. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 93-125.

Annerose D.J.M. & Diagne M. 1990. Caractérisation de la sécheresse agronomique en zone semi-aride. 1. Presentation d'un modèle simple d'évaluation appliqué au cas de l'arachide cultivée au Sénégal. *Oleagineux* 45: 547-554.

Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

Asada K. & Takahashi M. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In *Photoinhibition*, Vol. 9, (D.J. Kyle, C.B. Osmond e C.J. Arntzen,

eds.), pp. 227-287. Topics in photosynthesis, Elsevier Science Publishing, B.V., England.

Asada K. 1994. Mechanisms for scavenging reactive molecules generated in chloroplasts under stress. *In Photoinhibition of Photosynthesis - From Molecular Mechanisms to the Field* (N.R. Baker e J.R. Bower, eds.), pp. 129-142. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, England.

Ashwell G. 1957. Colorimetric analysis of sugar. *Methods in enzymology* 4: 73-105.

Aspinal D. & Paleg L.G. 1981. Proline accumulation: physiological aspects. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinal, eds.), pp. 206-240. Academic Press Australia, Australia.

Bacall E.V. & García S.T. 1981. Fisiología Vegetal. Editorial Pueblo y Education. Ciudad de La Habana, Cuba.

Bansal K.C., Uprety D.C. & Arbol Y.P. 1993. Genetic variation in photosynthetic characteristics in wheat: causes and consequences. *In Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P.Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 528-545. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, England.

Barber J. & De Las Rivas J. 1993. A functional model for the role of cytochrome *b₅₅₉* in the protection against donor and acceptor side photoinhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10942-10946.

- Barlow E.W.R. 1986. Water relations of expanding leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 45-58.
- Barneix A.J. 1990. Yield variation in wheat: nitrogen accumulation, light interception and harvest index. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers, M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 87-100. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.
- Bates L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bethenod O., Lhomme J.-P, Katerji N., Quetin P. & Bertolini J.-M. 1991. Efficience de l'eau d'une culture de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. cv. Bintje). 2. Application à un modèle de calcul d'assimilation nette du couvert végétal. *Photosynthetica* 25: 545-559.
- Björkman O., Powles & S.B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta* 161: 490-504.
- Blum A.; Gozlan G: & Mayer J. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germoplasm. *Crop Sci.* 22: 495-499.
- Borowitzka L.J. 1981. Solute accumulation and regulation of cell water activity. In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 97-104. Academic Press, Sydney, Australia.

Boyer J.S. & Bowen B.L. 1970. Inhibition of oxygen evolution in chloroplast isolated from leaves with low water potentials. *Plant Physiol.* 45: 612-615.

Bradford K.J. & Hsiao T.E. 1982. Physiological response to moderate water stress. *In Physiological Plant Ecology. II. Water Relations and Carbon Assimilation, Encyclopedia of Plant Physiol.*, Vol. 12B (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond e H. Ziegler, eds.), pp. 263-324. Springer Verlag, New York, USA.

Brestic M., Cornic G., Fryer M.J. & Baker N.R. 1995. Does photorespiration protect the photosynthetic apparatus in french bean leaves from photoinhibition during drought stress? *Planta* 196: 450-457.

Brown P.S., Knievel D.P. & Pell E.V. 1995. Effects of moderate drought on ascorbate peroxidase and glutathione reductase activities in mesophyll and bundle sheath cells of maize. *Physiol. Plant.* 95: 274-280.

Buser C.A., Diner B.A. & Brudvig G.W. 1992. Photooxidation of cytochrome *b₅₅₉* in oxygen-involving photosystem II. *J. Biochem.* 31: 11449-11459.

Busolo-Bulafu C.M. 1992. Response of groundnut varieties to drought stress at Namulonge Research Station. *In Proceeding of Fifth Regional Groundnut Workshop for Southern Africa* (R.C. Nagswara Rao e Subrahmanyam P., eds.), pp. 81-82. International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics, Lilongwe, Malawi.

- Buttery B.R., Tan C.S., Buzzell R.I., Gaynor J.D. & MacTAVISH D.C. 1993. Stomatal numbers of soybean and response to water stress. *Plant and Soil* 149: 283-288.
- Cachorro A.D. & Cerda A. 1993. Effects of saline stress and calcium on lipid composition in bean roots. *Phytochem.* 32: 1131-1136.
- Campos P.S. 1998. Effects of water stress on photosynthetic performance and membrane integrity in *Vigna spp.* Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia e Bioquímica). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Carter P.R. & Sheaffer C.C. 1982. Alfalfa response to soil water deficit. II Plant water potential, leaf conductance, and canopy temperature relationships. *Crop Sci.* 23: 676-680.
- Catský J. 1960. Determination of water deficit in discs cut out from leaf blades. *Biol. Plant.* 2: 76-78.
- Cavelier J. & Goldstein G. 1987. Leaf anatomy and water relations in tropical elfin cloud forest tree species. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Krub, H. Ritcher e T.M. Hinckley, eds.), pp. 243-253. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), Germany.
- Celikel F.G. & van Doorn W.G. 1995. Solute leakage, lipid peroxidation, and protein degradation during senescence of *Iris* tepals. *Physiol. Plant.* 94: 515-521.

Ceulemans R.J. 1990. Genetic variation in functional and structural productivity components in *Populus*. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers., M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 69-85. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Chaves M.M. 1991. Effects of water deficit on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* 42: 1-16.

Cornic G. & Briantais J.M. 1989. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentration and during drought stress. *Planta* 183: 178-184.

Cornic G. 1987. Interaction between sublethal pollution by sulphur dioxide and drought stress. The effect on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 115-119.

Cornic G., Papageorgiou I. & Louason G. 1987. Effect of a rapid and slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non-stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 126: 309-318.

Creelman R.A., Mason H.S., Bensen R.J., Boyer J.S. & Mullet J.E. 1990. Water deficit and abscisic acid causes differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedling. Analyse of growth, sugar accumulation, and gene expression. *Plant Physiol.* 92: 204-214.

Crowe J.H., Crowe L.M., Carpenter J.F. & Aurell W. 1987. Stabilization of dry phospholipid bilayers and protein by sugars. *Bioc. J.* 242: 1-10.

Cruz-de-Carvalho E. 1998. A racionalidade dos sistemas agro-pecuários tradicionais angolanos. Seminário “A agricultura em África: um olhar retrospectivo”. Liga dos Estudantes Africanos da Universidade de Évora, Évora, Portugal.

Cunha L.V. 1982. As secas. Caracterização, impactos e mitigação. Comissão Nacional do Ambiente, Colecção o Ambiente e o Homem, Lisboa, Portugal.

Davies W.J, Metcalfe J., Lodge T.A. & da Costa A.R. 1986. Plant growth substances and the regulation of growth under drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 105-125.

Davies W.J. & Pereira J.S. 1992. Plant growth and water use efficiency. *In Crop Photosynthesis: spatial and temporal determinants* (N.R. Baker e H. Thomas, eds.), pp. 213-233. Elsevier Science Publishers B.V..

Demmig -Adams B., Adams W.W., Logan B.A. & Verhoeven A. 1995. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plants acclimated to light stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 249-260.

Demmig-Adams B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1020: 1-24.

Dhindsa R.S. & Mattowe W. 1981. Drought tolerance in two mosses correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 32: 79-91.

Di Marco G. & Tricoli D. 1993. Effect of water deficit on photosynthesis and electron transport in wheat grown in a natural environment. *J. Plant Physiol.* 142: 156-160.

Di Marco G., Massaci A. & Gabrielli R. 1988. Drought effect on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiol. Plant.* 74: 385-390.

Dinis C.A. 1991. Angola, o meio físico e potencialidades agrárias. Instituto para a Cooperação Económica, Lisboa, Portugal.

Dornhoff G.M. & Shibles R. 1976. Leaf morphology and anatomy in relation to CO₂-exchange rate of soybean leaves. *Crop Sci.* 16: 377-431.

Drake B. & Raschke K. 1974. Prechiling of *Xanthium strumarium* L. reduces net photosynthesis and independently of stomatal conductance while sensitising stomata to CO₂. *Plant Physiol.* 53: 808-812.

Droppa M., Masojidek J., Rózsa Z., Wolak A., Horváth L., Farkas T. & Horváth G. 1987. Characteristics of Cu deficiency-induced inhibition of photosynthesis electron transport in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 891: 75-84.

Durrant J.R., Giorgi L.B. Barber J., Klug D.R. & Porter G. 1990. Characterisation of triplet state in isolated photosystem II reaction centre: oxygen quenching as a mechanism of photodamage. *Biochim. Biophys. Acta* 1017: 167-175.

Earnshaw W.J. 1993. Stress indicators: electrolyte leakage. *In Methods in Comparative Plant Ecology. A Laboratory Manual* (G.A.F Hendry. e J.P. Grime, eds.), pp. 152-154. Chapman & Hall, London, England.

Ehadie B. & Waines J.G. 1993. Variation in water-use efficiency and its components in wheat: I. well-watered pot experiment. *Crop Sci.* 33: 294-299.

Ehleringer J. & Forseth I. 1980. Solar tracking by plants. *Science* 210: 1094-1098.

El-Sharkawy M.A. 1990. Effect of humidity and wind on leaf conductance of field grown cassava. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal* 2: 17-22.

Epron D., Dreyer E. & Bréda N. 1992. Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant Cell Environ.* 15: 808-820.

Farquhar G.D. & Sharkey T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.

Ferrão J. & Xabregas J. 1960. Investigações agronómicas nacionais no âmbito da nutrição alimentar em África. *Agronomia Angolana* 12:61-95.

Ferrão J.E.M. 1992. A aventura das plantas e os descobrimentos portugueses. Instituto de Investigação Científica Tropical, Comissão para as Comemorações dos Descobrimentos Portugueses, Fundação Berardo, Lisboa, Portugal.

Ferrão J.E.M., Ferrão A.M.B. & Antunes A.M.C. 1987. A mancarra dos Bijagós (*Vigna subterranea*). Aspectos do seu valor nutricional. *Garcia de Orta, Sér. Est. Agron.* 14: 35-39.

Ferrari-Iliou R., Pham Thi A.T. & Vieira da Silva J. 1984. Effect of water stress on the lipid and fatty acid composition of cotton (*Gossypium hirsutum*) chloroplasts. *Physiol. Plant* 62: 219-224.

Fisher M.J., Charles-Edward D.A. & Ludlow M.M. 1981. An analysis of the effects of repeated shorter soil water deficit on stomatal conductance to carbon dioxide and leaf photosynthesis by legume *Macroptilium atropurpureum* cv. sirato. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 347-357.

Fisher R.A. & Turner N.C. 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 277-317.

Fitter A.H. & Hay R.K. M. 1989. Environmental physiology of plants. Second edition. Academic Press, London, England.

Ford C.W. & Wilson J.R. 1981. Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 77-91.

Frank A.B., Power J.F. & Willis W.O. 1973. Effects of temperature and plant water stress on photosynthesis, diffusion resistance, and leaf water potential in spring wheat. *Agronomy. J.* 65: 777-780.

Franklin L.A., Levavasseur G., Osmond C.B., Henley W.J. & Ramus W.J. 1992. Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. *Planta* 186: 399-408.

Frederick J.R., Alm D.M. & Hesketh J.D. 1989. Leaf photosynthesis rates, stomatal resistance and internal CO₂ concentrations of soybean cultivars under drought stress. *Photosynthetica* 23: 575-584.

Genty B., Briantais J.-M. & Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.

Genty B., Briantais J.M. & Vieira da Silva J.B. 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83: 360-364.

Gombos Z., Wada H., Hideg E. & Murata N. 1994. The unsaturation of membrane lipids stabilises photosynthesis against heat stress. *Plant Physiol.* 104: 563-567.

Good G.A. & Zaplachinski T.S. 1994. The effects of drought stress on free amino acids accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiol. Plant.* 90: 9-14.

Gosrove D. 1986. Biophysical control of plant cell growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 377-405.

Gronewald J.W., Abou-Khalil W., Weber E.J. & Hanson J. 1982. Lipid composition of plasma membrane enriched fraction of maize roots. *Phytochem.* 21: 859-862.

Guinn G., Dunlap J.R. & Brummett D.L. 1990. Influence of water deficit on abscisic acid and indol-3-acetic acid contents of cotton flowers bud and flowers. *Plant Physiol.* 93: 1117-1120.

Gummuluru S., Hobbs S.L.A. & Jana S. 1989. Physiological responses of drought tolerant and drought susceptible durum wheat genotypes. *Photosynthetica* 23: 479-485.

Gupta A.S. & Berkowitz G.A. 1987. Osmotic adjustment, symplast volume, and nonstomatal mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.* 85: 1040-1047.

Hager A. & Meyer-Bertenrath T. 1966. Die isolierung und quantitative bestimmung der carotinoide und chlorophylle von blättern, algen un isolierten chloroplasten mit hilfe dunnschichtchromatographischen methoden. *Planta* 69: 198-217.

Hall R.G. & Larson K.L. 1982. Water stress of alfafa during stress and recovery. *Can. J. Plant Sci.* 62: 639-647.

- Hanson A.D. 1983. Whole-Plant response to water deficits: water deficit and nitrogen economy. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. ...
- Harbinson J. & Foyer C.H. 1991. Relationship between the efficiencies of photosystems I and II and stromal redox state in CO₂-free air. Evidence for cyclic electron flow *in vivo*. *Plant Physiol.* 97: 41-49.
- Harwood J.L. 1980. Plant acyl lipids: structure, distribution, and analysis. *In The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise, Vol.4*, (P.K. Stumpf e E.E. Conn, eds.), pp. 2-48. Academic Press, New York, USA.
- Havaux M. 1992. Stress tolerance of photosystem II *in vivo*. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stresses. *Plant Physiol.* 100: 424-432.
- He J.X., Wang J. & Liang H.G. 1995. Effects of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. *Physiol. Plant.* 93: 771-777.
- Heber U. & Walker D. 1992. Concerning dual function of coupled cyclic electron transport in leaves. *Plant Physiol.* 100: 1621-1626.
- Henzel R.G., Mccree K.J., van Bavel C.H.M. & Schertz K.F. 1976. Method for screening sorghum genotypes for stomatal sensivity to water deficits. *Crop Sci.* 17: 516-518.

Hernandez A.P., Cock J.H. & El-Sharkawy M.A. 1989. The response of leaf gas exchange and stomatal conductance to air humidity in shade-grown coffee, tea, and cacao plants as compared with sunflower. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal* 1: 155-161.

Hidég É. 1997. Free radical production in photosynthesis under stress conditions. *In Handbook of Photosynthesis* (M. Pessarakli, ed.), pp. 911-930. Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Hinckley T.M., Duhume F., Hinckley A.R. & Richter H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant Cell Environ.* 5: 147-154.

Hoagland D.R. & Snyder W.C. 1933. Nutrition of strawberry plant under controlled conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort Sci.* 30: 288.

Hodgson J.G., Booth R.E. & Gaitens P. 1993. Functional plant anatomy. *In Methods in Comparative Plant Ecology. A Laboratory Manual* (G.A.F. Hendry e J.P. Grime, eds.), pp. 32-36. Chapman & Hall, London, England.

Hoogenboom G., Huck M.G., Peterson, C.M. 1987a. Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79: 598-607.

Hoogenboom G., Peterson C.M. & Huck M.G. 1987b. Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79: 607-614.

Horton P., Ruban A. V. & Walter R.G. 1996. Regulation of light harvesting in green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 655-684.

Houchins J.P. & Hind G. 1984. Concentration and function of membrane-bound cytochromes in cyanobacterial heterocysts. *Plant Physiol.* 76: 456-460.

Hsiao T., O'Toole J.C., Yambao E.B. & Turner N. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol.* 75: 338-341.

Hsiao T.C. & Bradford K.J. 1983. Physiological consequences of cellular water deficit. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e R.T. Sinclair, eds.), pp. 215-225. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Wisconsin, USA.

Hsiao T.C. 1973. Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 519-70.

Hubac C., Guerrier D., Ferran J. & Trémolières A. 1989. Change of lipid composition during water stress on two genotypes resistant or susceptible to drought. *Plant Physiol. Biochem.* 27: 737-744.

Hubick K.T., Farquar G.D. & Shorter R. 1986. Correlation between water-use efficiency and carbon isotope discrimination in diverse peanut (*Arachis*) germoplasm. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 803-16.

Huck M.G., Peterson C.M., Hoogenboom G. & Busch C.D. 1986. Distribution of dry matter between shoot and root of irrigated and nonirrigated determinate soybeans. *Agron. J.* 78: 807-813.

Hudak C.M. & Patterson R.P. 1995. Vegetative growth analysis of a drought-resistant soybean plant introduction. *Crop Sci.* 35: 467-471.

Huffaker R.C., Radin T., Kleinkopf G.E. & Cox E.L. 1970. Effects of mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of the carboxylative phase of photosynthesis in barley. *Crop Sci.* 10: 471-474.

Hygen G. 1951. Studies in plant transpiration I. *Physiol. Plant.* 4: 106-133.

Jacquinet L., Forget M. & Edah K.A. 1981. Resistance a la transpiration chez le riz pluvial (*Oryza sativa*). Étude d'un test de criblage varietal. *Agron. Trop.* 36: 247-252.

Jefferies R.A. 1994. Drought and chlorophyll fluorescence in field-grown potato. *Physiol. Plant.* 90: 93-97.

Johnson R.R., Frey N.M. & Moss D.N. 1974. Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Sci.* 14: 728-731.

Jones H.G. 1977. Transpiration in barley lines with differing stomatal frequencies. *J. Exp. Bot.* 26: 162-168.

Jones H.G. 1979. Stomatal behavior and breeding for drought resistance. *In Stress Physiology in Crop Plants* (H. Mussell e R.C. Staples, eds.), pp. 408-427. John Wiley, New York, USA.

Jones H.G. 1992. Plant and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology. Pp. 264-293. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge, England.

Jones M.M, Turner N.C. & Osmond C.B. 1981. Mechanisms of drought resistance. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinal, eds.), pp. 15-35. Academic Press, Sydney, Australia.

Jones M.M., Osmond C.B. & 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. & Osmond C. B. 1981. Mechanisms of drought resistance. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G Paleg e D. Aspinal, eds.), pp. 15-35. Academic Press, Sydney, Australia.

Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 331-340. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Joshi S.C 1995. Species specific diurnal changes in chlorophyll fluorescence in tropical deciduous and evergreen plants growing in the field during summer. *Photosynthetica* 31: 549-557.

Jouve L., Engelmann F., Noirot M. & Charrier A. 1993. Evaluation of biochemical markers (sugar, proline, malonaldehyde and ethylene) for cold sensitivity in microcuttings of two coffee species. *Plant Sci.* 91: 109-116.

Kaiser W.M. 1987a. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.

Kaiser W.M. 1987b. Non-stomatal, primary dehydration effects on photosynthesis: possible mechanisms for reversible and irreversible damage. *Current Topics Plant Biochem. Physiol.* 6: 119-133.

Kaoru M. & Rayan A. 1990. Anatomy: a key factor regulating plant tissue response to water stress. In *Environmental Injury to Plants* (Katernian, ed.), pp. 63-87. Academic Press, London, England.

Keck R.W. & Boyer J.S. 1974. Chloroplast response to low leaf water potentials. III. Differing inhibition of electron transport and photophosphorylation. *Plant Physiol.* 53: 474-479.

Khalifaoui J.L. B. 1985. Conduite de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse en fonction de ses mécanismes physiologiques. *Oleagineux* 40(6): 329-332.

Khalifaoui J.L.B. & Annerose D. 1986. Création variétale d'arachide adaptée aux contraintes pluviométriques des zones semi-arides. In *Proceedings of an International Symposium* (ICRISAT, ed), pp.127-134. Niamey, Índia.

Konings H. 1989. Physiological and morphological differences between plants with a high NAR or a high LAR as related to environmental conditions. *In Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of higher Plants* (H. Lambers, M.L. Cambridge, H. Konings e T.L. Pons, eds.), pp.101-123. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.

Kramer P.J. 1983. Water relations of plants. Academic Press, New York, USA.

Krause G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 77: 566-574.

Kriedemann P.E. & Downton J.S. 1981. Photosynthesis. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 283-314. Academic Press Australia, Sydney, Australia.

Kriedemann P.E. 1986. Stomatal and photosynthetic limitation to leaf growth. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 15-31.

Krieg D.R. 1983. Whole-plant response to water deficits: carbon assimilation and utilisation. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 277-287. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Kvet J., Ondok J.P., Necas J. & Jarvis P.G. 1971. Methods of growth analysis. *In Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods* (Z. Sesták, J. Catský & P.G. Jarvis, eds.), pp. 343-391. Dr. W. Junk Publ., The Hague.

Laisk A. 1983. Calculation of photosynthetic leaf parameters considering the statistical distribution of stomatal apertures. *J. Exp. Bot.* 34: 162-168.

Lakso N.A. 1979. Seasonal Changes in stomatal response to leaf water potential in apple. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* 104: 58-60.

Lange O. L., Harley P. C., Beyschlag W. & Tenhunen J. D. 1987. Gas exchange methods for characterising the impact of stress on leaves. *In Plant Response to Stress*, Vol. G15 (J. D. Tenhunen *et al*, ed.), pp. 3-25. NATO ASI Series. Springer-verlag, Berlin, Germany Heidelberg.

Larcher W. 1995. *Physiological plant ecology* (2^a ed). Springer Verlag, Berlin, Germany.

Lawlor D.W. & Khanna Chopra R. 1983. Regulation of photosynthesis during water stress. *In Advances in Photosynthesis Research* (Sybesma, ed.), pp 379-382. Nijhoff M. e Junk W. Publishers, The Hague.

Lawlor D.W. & Uprety D.C. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crop and the biochemical mechanism. *In Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P. Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 421-445. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherland.

Lawlor D.W. 1983. Integration of biochemical processes in the physiology of water stressed plants. *In Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e van Poucke M., eds.), pp. 35-44. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.

Lawlor D.W. 1995. Photosynthesis, productivity and environment. *J. Exp. Bot.* 46: 1449-1461.

Lawlor D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. *In Environment and Plant Metabolism: flexibility and acclimation* (N. Smirnoff, ed.), pp. 129-160. Environmental Plant Biology Series, βios Scientific Publishers Ltd., Oxford, England.

Levitt 1980. Response of plants to environmental stresses 2nd ed., Vol. 2. Academic Press, New York, USA.

LI S., Huguet J.G., Schooch P.G. & Bussi C. 1990. Réponse de jeunes pêchers cultivés en pots à différents régimes d'alimentation hydrique. II. Effects sur la croissance et développement. *Agronomie* 10: 353-360.

Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.

Lidon F.J.C & Henriques F.S. 1992 Effects of copper on the nitrate to ammonia reduction mechanisms in rice plants. *Photosynthetica* 26: 371-380.

Lidon F.J.C. & Henriques F.S. 1993. Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica* 29: 249-279.

Lidon F.J.C. 1993. Efeito do excesso de cobre em plantas de arroz. Aspectos bioquímicos, fisiológicos e ultraestruturais. Tese de Doutoramento em Bioquímica vegetal. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Loomis R. S. 1983. Crop manipulation to efficient water use. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e Sinclair R.T., eds.), pp. 345-371. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Wisconsin, USA.

Lopez B.F., Setter T.L. & McDavid C.R. 1987. Carbon dioxide and light responses of photosynthesis in cowpea and pigeonpea during water deficit and recovery. *Plant Physiol.* 85: 990-995.

Lopez B.F., Setter T.L. & McDavid C.R. 1988. Photosynthesis and water vapour exchange of pigeonpea leaves in response to water deficit and recovery. *Crop Sci.* 28: 141-145.

Lopez F.B., Stter T.L. & McDavid 1987. Carbon dioxide and light responses of photosynthesis in cowpea and pigeonpea during water deficiency and recovery. *Plant Physiol.* 85: 990-995.

- Ludlow M.M. & Muchow R.C. 1988. Critical evaluation of the possibilities for modifying crops for high production per unit of precipitation. *In Drought Research Priorities for the Dryland Tropics* (F.R. Bidinger e C. Johansen, eds.), pp. 179-210. ICRISAT, Patancheru, India.
- Ludlow M.M. & Powles S.B. 1988. Effect of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 179-194.
- Ludlow M.M. 1987. Strategies of response to water stress. Structural and functional response to environmental stresses: water shortage. *In Abstracts of XIV International Botanical Congress* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 269-282. Berlin (West), Germany.
- Ludlow M.M., Björkman 1984. Paraheliotropic leaf movement in Sorghum as a protective mechanism against drought-induced damage to primary photosynthetic reactions: damage by excessive light and heat. *Planta* 161: 505-518.
- Ludlow M.M., Chu A.C.P., Clements R.J. & Kerslake R.G. 1983. Adaptation of species of *Centrosema* to water stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 119-130.
- Ludlow M.M., Ng T.T. & Ford C.W. 1980. Recovery after water stress of leaf gas exchange in *Panicum maximum* var. *trichoglume*. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 299-313.

Mansfield T.A. & Davies W.J. 1981. Stomata and stomatal mechanisms. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 315-344. Academic Press Australia, Sydney, Australia.

Mansfield T.A. 1976. Delay in response of stomata to abscisic acid in CO₂-free air. *J. Exp. Bot.* 27: 559-564.

Mansfield T.A. e Davies W. J. 1981 Stomata and stomatal mechanisms. *In The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants.* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 315-344. Academic Press, Australia.

Marcelino F.A.B. 1973. Zonagem do Milho de sequeiro em Angola. Primeira Aproximação. Instituto de Investigação Agronómica de Angola. Série Científica nº 29. Nova Lisboa, Angola.

Markhart III A.A., Ficus E.L., Naylor A.W. & Kramer P.J. 1979. Effect of abscisic acid on root hydraulic conductivity. *Plant Physiol.* 94: 1614-1624.

Maroti I., Tuba Z. & Csik M. 1984. Change in chloroplast ultrastructure and carbohydrate level in *Festuca*, *Achillea* and *Sedum* during drought and recovery. *J. Plant Physiol.* 116: 1-10.

Matos M.C. 1990. A economia da água da macieira. Aspectos fisiológicos e aplicação ao controlo da rega. Tese de Doutoramento em Biologia (Fisiologia Vegetal). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal.

Matos M.C., Nunes M.A. & Dias J. 1983. A oportunidade da rega. Estudos sobre índices fisiológicos. Estação Nacional de Fruticultura Vieira da Natividade e Centro de Estudos de Produção e Tecnologia Agrícola, Alcobaça, Portugal.

Matthews R.B., Harris D., Williams J.H. & Nageswara R.C. 1983. The physiological basis for yield differences between four genotypes of groundnut (*Arachis hypogaea*) in response to drought. II Solar radiation interception and leaf movement. *Expl. Agric.* 24: 203-213.

Mayoral M.L., Atsmon D., Shimsh D. & Gromet-Elhanan Z. 1981. Effect of water stress on enzyme activities in wheat and related wild species: carboxylase activity, electron transport and photophosphorylation in isolated chloroplast. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 385-393.

McCree K.J. & Davis 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. & Fernandez C.J. 1989. Simulation model for studying physiological water stress response of whole plants. *Crop Sci.* 29:353-360.

McCree K.J. 1974. Changes in the stomatal response characteristics of grain sorghum produced by water stress during growth. *Crop Sci.* 14: 273-278.

Medrano H. & Vadell J. 1993. Photosynthesis improvement as a way to increase crop yield. In *Photosynthesis: Photoreaction to Plant productivity* (Y.P. Arbol, P. Monthany e Govinjee, eds.), pp. 572-582. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, England.

Meinzer F.C., Goldstein G., Holbrook N. M., Jackson P. & Cavelier J. 1993. Stomatal and environmental control of transpiration in a lowland tropical forest tree. *Plant, Cell Environ.* 16: 429-436.

Meyer S., Hung S.P.N., Trémolières A. & Kouchkovsky Y. 1992. Energy coupling, membrane lipids and structure of thylakoids of Lupin plants submitted to water stress. *Photosynth. Res.* 33: 95-107.

Miller T.E., Wing J.S. & Huete R.A. 1984. The agricultural potential of selected C₄ plants in arid environments. *J. of Arid Environments* 7: 275-286.

Miralles B.O., Garaulet I.C. 1993. El agua en la planta. In *Agronomía del Riego* (F.M.S. Mañas e J.A. de Juan Valero, eds.), pp. 75-107. Ediciones Mundi-Prensa, Universidade de Castilla - la Mancha, Castello, Espana.

Mishra N.P., Fatma T. & Singhal G. 1995. Development of antioxidative defence system of wheat seedlings in response to light. *Physiol. Plant.* 95: 77-82.

Mohanty P. & Boyer J.S. 1976. Chloroplast response to low leaf potentials. IV. Quantum yield is reduced. *Plant Physiol.* 57: 704-709.

- Monteiro R.F.R. 1970. Estudo da flora e da vegetação das florestas abertas do planalto do Bié. Instituto de Investigação Científica de Angola, Luanda, Angola.
- Moreira T., Henriques F.S., Matos M.C. & Campos P. 1990. Protoplasmic drought resistance and water use efficiency. *Bull. Soc. Bot. Franc.* 137: 81-89.
- Morgan J.M. 1983. Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 34:607-614.
- Morgan J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 299-319.
- Morgan W.P., He C.-J., de Greef J.A. & de Proft M.P. 1990. Does water deficit stress promote ethylene synthesis by intact plant? *Plant Physiol.* 94: 1614-1624.
- Munns R. & Weir R. 1981. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 93-105.
- Nagarajah S. & Schulze E.-D. 1983. Response of *Vigna unguiculata* (L.) Walp to atmospheric and soil drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 385-394.
- Nátr L. & Pazourek J. 1986. Genotypic differences and heterogeneity in the stomatal frequency of barley leaves. *Photosynthetica* 20: 363-370.

- Navari-Izzo F., Milone M.T.A., Quartacci M.F. & Pinzino C. 1993b. Metabolic changes in wheat plants subjected to water deficit stress programme. *Plant Sci.* 92: 151-157.
- Navari-Izzo F., Quartacci M.F. & Izzo R. 1989. Lipid changes in maize seedlings in response to field water deficit. *J. Exp. Bot.* 40: 675-680.
- Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Melfi D. & Izzo R. 1993a. Lipid composition of plasma membranes isolated from sunflower seedlings grown under water stress. *Physiol. Plant.* 87: 508-514.
- Navari-Izzo F., Ricci F., Vazzana C. & Quartacci M.F. 1995. Unusual composition of thylakoid membranes of the resurrection plant *Boea hygrosopica*: changes in lipids upon dehydration and rehydration. *Physiol. Plant.* 94: 135-142.
- Navari-Izzo F., Vangioni N. & Quartacci M.F. 1990. Lipids of soybean and sunflower seedlings grown under drought conditions. *Phytochem.* 29: 2119-2123.
- Nunes M.A. 1967. Um estudo comparativo de resistência à secura em cacauero. *Garcia de Orta* 15: 361-366.
- Nunes M.A., Catarino F. & Pinto E. 1989. Strategies for acclimation to seasonal drought in *Ceratonia siliqua* leaves. *Physiol. Plant.* 77: 150-156.
- O'Toole J.C., Ozbun J.L. & Wallace D.H. 1977. Photosynthetic response to water stress in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 40:111-117.

- Ober E.S. & Sharp R.E. 1994. Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. I. Requirement for increased levels of abscisic acid. *Plant Physiol.* 105: 981-987.
- Öquist G. 1983. Low temperature effects on photosynthesis in conifers. In *Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e M. van Poucke, eds.), pp. 211-218. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.
- Paleg L.G., Douglas T.J., van Daal A. & Keech D. B. 1981. Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 107-114.
- Pandey R.K., Herrera W.A.T. & Villegas A.N. 1983. Drought response of grain legumes under irrigation gradient. III. Plant growth. *Agron. J.* 76: 557-560.
- Parry M.A.J., Delgado E., Vadell J., Keys J., Lawlor D.W. & Medrano H. 1993. Water stress and diurnal activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in field grown *Nicotiana tabacum* genotypes selected for survival at low CO₂ concentration. *Plant Physiol. Biochem.* 31: 113-120.
- Paul N.K. & Eagles C.F. 1988. Cultivar differences in net photosynthetic rates and their relationship with leaf anatomical characteristics in *Brassica*. *Photosynthetica* 22: 320-327.

- Pearcy R.W. & Sims D.A. 1994. Photosynthetic acclimation to changing light environments: scaling from the leaf to the whole plant. *In Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants* (Caldwell e Pearcy, eds.), pp. 145-174. Academic Press.
- Pearcy R.W. 1983. Physiological consequences of cellular water deficits: nonstomatal inhibition of photosynthesis by water stress. *In Limitations to Efficient Water Use in Crop Production* (M.H. Taylor, R.W. Jordan e R.T. Sinclair, eds.), pp. 277-287. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Wisconsin, USA.
- Pereira J.S., Tenhunen J.D., Lange O.L., Beyschlag W., Meyer A. & David M.M. 1985. Seasonal and diurnal patterns in leaf gas exchange of *Eucalyptus globulus* trees growing in Portugal. *Can. J. For. Res.* 16: 177-184.
- Pérez-Alfocea F. & Larher F. 1995. Sucrose and proline accumulation and sugar efflux in tomato leaf discs affected by NaCl and polyethylene glycol 6000 iso-osmotic stresses. *Plant Sci.* 107: 9-15.
- Pham Thi A.T., Vieira da Silva J. & Mazliak P. 1990. The role of membrane lipids in drought resistance of plants. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 137, 99-114.
- Pinto O.R. 1985. Ensaios preliminares com amendoim, *Arachis hypogaea* L. Estação Agronómica Nacional, Oeiras, Portugal.

Plaut Z. 1971. Inhibition of photosynthetic carbon dioxide fixation in isolated spinach chloroplasts exposed to reduced osmotic potentials. *Plant Physiol.* 48:591-595.

Poljakoff-Mayber A. 1983. Ultrastructural consequences of drought. In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (L.G. Paleg e D. Aspinall, eds.), pp. 389-401. Academic Press Australia, Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco.

Pooter H. 1990. Interspecific variation in relative growth rate: on ecological causes and physiological consequences. In *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants* (H. Lambers., M.L. Cambridge e H. Konings, eds), pp. 45-68. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Prasil O., Kolber Z., Berry J.A. & Falkowski P.G. 1996. Cyclic electron flow around photosystem II *in vivo*. *Photosynth. Res.* 48: 395-410.

Premachandra G.S. & Shimad T. 1987a. The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as a drought tolerance test in wheat. *Japon. J. Crop Sci.* 56: 92-987

Premachandra G.S. & Shimad T. 1987b. Measurement of drought tolerance in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). I. Polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability. *J. Japon. Soci. Grassland Sci.* 33: 140-147.

Premachandra G.S. & Shimad T. 1988. Evaluation of polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability as a drought tolerance test in wheat. *J. Agric. Sci., Camb.* 110: 2000-2005.

Premachandra G.S., Saneoka H. Fujita K. & Ogata S. 1992. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. *J. Ex. Bot.* 43: 1451-1456.

Price A.H. & Hendry G.A.F. 1991. Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environ.* 14: 477-484.

Quick W.P., Chaves M.M., Wendler R., David M., Rodrigues M.L., Passarinho J.A., Pereira J.S., Adcock M.D., Leegood R.C. & Stitt M. 1992. The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant Cell Environ.* 15: 25-35.

Raggi V. 1994. Changes in free amino acids and osmotic adjustment in leaves of water-stressed bean. *Physiol. Plant.* 91: 427-434.

Raison J.K. 1980. Membrane lipids: structure and function. *In The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise, Vol.4*, (P.K. Stumpf e E.E Conn, eds.), pp. 57-81. Academic Press, New York, USA.

Ramalho J.D. & Chaves M.M. 1992. Drought effects on plant water relations and carbon gain in two lines of *Lupinus albus* L. *Eur. J. Agron.* 1: 271-280.

- Ramalho J.D.C. 1998. Nitrogen-dependent photoprotection mechanism against photoinhibition in *Coffe arabica* cv. Catuai. PhD Thesis in Biology (Plant Physiology and Biochemistry). Faculty of Sciences from Lisbon University, Lisbon, Portugal.
- Read J.J., Johnson D.A., Asay H.K. & Tieszen L.L. 1991. Carbon isotope discrimination, gas exchange, and water-use efficiency in crested wheatgrass clones. *Crop Sci.* 31: 1203-1208.
- Redfearn E.R. & Friend J. 1962. Studies on plastoquinone. 1. Determination of the concentration and oxidation-reduction state of plastoquinone in isolated chloroplasts. *Phytochemistry* 1: 147-151.
- Rela J.M.Z. 1992. Angola entre o presente e o futuro. Escher e Agropromotora (eds.). Coleção estudos sobre a África nº6, Lisboa, Portugal.
- Richter H. & Kikuta S. 1989. Osmotic and elastic components of turgor adjustment in leaves under stress. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 129-137. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.
- Robinson S.P., Grant W.J.R. & Loveyes B.R. 1988. Stomatal limitation in abscisic acid-treated and in water-stressed leaves measured at elevated CO₂. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 495-503.

- Rodrigues M.L., Chaves M.M., Wendler R., David M.M., Quick W.P., Leegood R.C., Stitt M. & Pereira J.S. 1993. Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 309-321.
- Rodrigues M.L., Pacheco C.M.A. & Chaves M.M. 1995. Soil-water plant relations, root distribution and biomass partitioning in *Lupinus albus* L. under drought conditions. *J. Exp. Bot.* 46: 947-956.
- Saab I.N., Sharp E.R., Pritchard J. & Voetberg G.S. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. *Plant Physiol.* 83: 33-38.
- Saab I.N., Sharp E.R., Pritchard J. & Voetberg G.S. 1990. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedling at low water potentials. *Plant Physiol.* 93: 1329-1336.
- Saccardy K., Pineau B., Roche O. & Cornic G. 1998. Photochemical efficiency of photosystem II and xanthophyll cycle components in *Zea mays* leaves exposed to water stress and high light. *Photosynth. Res.* 56: 57-66.
- Sanchez-Dias M.F., & Kramer P.J. 1971. Behaviour of corn and sorghum under water stress and during recovery. *Plant Physiol.* 48: 613-616.
- Santos-Díaz M.S. & Ochoa-Alejo 1994. Effect of water stress on growth, osmotic potential and solute accumulation in cell cultures from chili pepper (a mesophyte) and creosote bush (a xerophyte). *Plant Sci.* 96: 21-29.

- Sawada S. & Sugai M. 1984. Response of transpiration and CO₂ exchange characteristics to soil moisture stress in four *Plantago* species and two grain sorghum genotypes in adaptation to drought stress. II Root water uptake and water use. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 627-636.
- Schäfer C. & Schmidt 1991. Light acclimation potential and xanthophyll cycle pigments in photoautotrophic suspension cells of *Chenopodium rubrum*. *Physiol. Plant.* 82: 440-448.
- Schindler C., Reith P. & Lichtenthaler H.K. 1994. Differential levels of carotenoids and decrease of zeaxanthin cycle performance during leaf development in a green and in shade aurea variety of tobacco. *J. Plant Physiol.* 143: 500-507.
- Scholander P.F., Hammel H.T., Bradstreet E.D. & Hemingsen E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sci.* 148: 339-346.
- Schopfer P. & Plachy C. 1985. Control of seed germination by abscisic-acid. III. Effect on embryo growth potential (minimum turgor pressure) and growth coefficient (cell wall extensibility) in *Brassica napus* L. *Plant Physiol.* 77: 676-686.
- Schulze E.-D. 1986. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 247-74.
- Seneratna T., McKersie B. & Stinson R.H. 1984. Association between membrane phase properties and dehydration in soybean axes. *Plant Physiol.* 76: 759-762.

- Serralheiro R.P. 1985. Hidráulica Agrícola I (2ª edição). Universidade de Angola, Faculdade de Ciências Agrárias, Huambo, Angola.
- Sgherri C.L.M., Pinzino C. & Navari-Izzo F. 1993. Chemical change and $O_2^{\bullet-}$ production in thylakoid membranes under water stress. *Physiol. Plant.* 87: 211-216.
- Sgherri C.L.M., Pinzino C. & Navari-Izzo F. 1996. Sunflower seedlings subject to increasing water deficit: Changes in $O_2^{\bullet-}$ production related to the composition of the thylakoid membranes. *Physiol. Plant.* 96: 446-452.
- Shackel K.A. & Hall A.E. 1979. Reversible leaflet movements in relation to drought adaptation of cowpeas, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Aust. J. Plant Physiol.* 6: 265-267.
- Sharkey T.D. & Badger M.R. 1982. Effect of water "stress" on photosynthetic electron transport, photophosphorylation, and metabolites levels of *Xanthium strumarium* mesophyll cells. *Planta* 156: 199-206.
- Sharkey T.D. & Seemann 1989. Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle, intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant. Physiol.* 89: 1060-1065.
- Sharkey T.D. 1985. Photosynthesis in intact leaves of C_3 plants: physics, physiology and rate limitations. *The Botan. Rev.* 51: 54-75.

- Sharma P.K. & Hall D.O. 1990. The effect of photoinhibition, sal stress and their interaction on photosynthesis in sorghum. *In Current Research in Photosynthesis*, Vol. II, (Baltscheffsky ed.), pp. 487-490. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Sharma P.K. & Hall D.O. 1993. The role of carotenoids in plants against photoinhibition. *In Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity* (Y. Abrol, P. Mohanty e Govinjee, eds.), pp. 469-478. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Sharma P.K. & Singhal S.G. 1992. The role of thylakoid lipids in the photodamage of photosynthetic activity. *Physiol. Plant.* 86: 623-629.
- Shgerri C.L.M. & Navari-Izzo F. 1995. Sunflower seedlings subject to increasing water stress: oxidative stress and defence mechanisms. *Physiol. Plant.* 93: 25-30.
- Shimish D. 1963. Effect of soil moisture and phenylmercuric acetat upon stomatal aperture, transpiration and photosynthesis. *Plant Physiol.* 38: 713-721.
- Siefermann-Harms D. 1987. The light-harvesting and protective function of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plant.* 69: 561-566.
- Simane B., Peacock J.M. & Struik P.C. 1993. Differences in developmental plasticity and growth rate among drought-resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Plant and Soil* 157: 155-166.

- Skackel K.A. & Hall A.E. 1983. Comparison of water relations and osmotic adjustment in sorghum and cowpea under field conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 423-435.
- Spiller S. & Terry N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiol.* 65: 121-125.
- Srinivasa Rao N.K. & Bhatt R.M. 1988. Photosynthesis, transpiration, stomatal difusive resistance, and relative water content of *Capsicum* (Bell Pepper) grown under water stress. *Photosynthetica* 22 (3): 377-382.
- Stefanov K., Markovska Y., Kimenov G. & Popov S. 1992a. Lipid and sterol changes in leaves of *Haberlea rhodopensis* and *Ramonda serbica* at transition from biosis into anabiosis and vice versa caused by water stress. *Phytochem.* 31: 2309-2314.
- Stefanov K., Popova I., Nikolova-Damyanova B., Kimenov G. & Popov S. 1992b. Lipid and sterol changes in *Phaseolus vulgaris* caused by lead ions. *Phytochem.* 31: 3745-3748.
- Stuhlfauth T., Sültemeyer D.F., Weinz S. & Fock H.P. 1990. Fluorescence quenching and gas exchange in a water stressed C₃ plant, *Digitalis lanata*. *Plant Physiol.* 86: 246-250.
- Stuhlfauth T., Scheuermann R. & Fock H. 1990. Light energy dissipation under water stress conditions. *Plant Physiol.* 92: 1053-1061.

- Sundaesan S. & Sudhakaran T. 1995. Water stress-induced alterations in the proline metabolism of drought-susceptible and tolerant cassava (*Manihot esculenta*) cultivars. *Physiol. Plant.* 94: 635-642.
- Swada S. & Sugai M. 1984. Responses of transpiration and CO₂ exchanges characteristics to soil moisture stress in four *Plantago* species. *Photosynthetica* 18: 34-42.
- Takahama U. & Nishimura M. 1975. Formation of singlet molecular oxygen in illuminated chloroplasts. Effects on photoinactivation and lipid peroxidation. *Plant Cell Physiol.* 16: 737-748.
- Takahama U. & Nishimura M. 1976. Effects of electron donor and acceptors, electron transfer mediators, and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments. *Plant Cell Physiol.* 17: 111-118.
- Teixeira A.R.N & Ricardo C.P.P. 1983 Fotossíntese (1ª edição). Didáctica Editora, Lisboa, Portugal.
- Tenhunen J.D., Beyschlag W., Lange O.L. & Harley P.C. 1987. Changes during summer drought in leaf CO₂ uptake rates of macchia shrubs growing in Portugal: Limitations due to photosynthetic capacity, carboxylation efficiency and stomatal conductance. *In Plant Response to Stress*, Vol. G15 (J. D. Tenhunen *et al*, ed.), pp. 305-327. NATO ASI Series. Springer-Verlag, Germany.

Thompson L.K. & Brudwing G.M. 1988. Cytochrome b-559 may function to protect photosystem II from photoinhibition. *J. Biochem.* 27: 6653-6658.

Tuba Z., Lichtenthaler H.K., Csintalan Z., Nagy Z. & Szente K. 1994. Reconstitution of chlorophylls and photosynthetic CO₂ assimilation upon rehydration of desiccated poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* (Pax) Th. Dur. et Schinz. *Planta* 192: 414-420.

Turner N.C. & Henson I.E. 1989. Comparative water relations and gas exchange of wheat and lupins in the field. In *Structural and Functional Response to Environmental Stress: Water Shortage* (K.H. Kreeb, H. Richter e T.M. Hinckley, eds.), pp. 293-304. XIV International Botanical Congress. Berlin (West), SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Turner N.C. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 175-190.

Urguiza R.A., Delgado E.O. & García R.R. 1988. Fisiología Vegetal. Editorial Pueblo y Education, Ciudad de La Habana, Cuba.

van Arendonk J.J.C.M. & Pooter H. 1994. The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. *Plant Cell Environm.* 17: 963-970.

Van Kooten O. & Snell J.F.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25: 147-150.

Vapaavuori E.M. & Valanne N.K.S. 1982. Activities of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in *Salix sp.* during water stress. *Photosynthetica* 16(1):1-6.

Vasquez-Tello A., Zuily-Fodil Y., Pham Thi A.T. & Vieira da Silva J.B. 1990. Electrolyte and Pi leakage and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *J. Exp. Bot.* 41: 827-832.

von Caemmerer & Farquhar G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.

Vu J.C., Allen L.H. & Bowes G. 1987. Drought stress and elevated CO₂ effects on soybean ribulose bisphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiol.* 83: 375-378.

Wainwright C.M. 1977. Sun-tracking and related leaf movements in a desert lupine (*Lupinus arizonicus*). *Amer. J. Bot.* 64: 1032-1041.

Wang Z., Quebedeaux B. & Stutte G. 1995. Osmotic adjustment: effect of water stress on carbohydrates in leaves, stems and roots of apple. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 747-754.

Webb M.S. & Green B. 1991. Biochemical and biophysical properties of thylakoid acyl lipids. *Biochim Biophys. Acta* 1060: 133-158.

Willmer C.M. 1988. Stomatal sensing of the environment. *Biol. J. Linnean Soc.* 34: 205-217.

Winston G.W. 1990. Photochemical basis for free radical formation in cells: Production and defences. *In Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Vol. 12, (R.G. Alsher R. e J.R. Cumming, eds.), pp 57-86. Plant Biology Series, New York, USA.

Wong S.C, Cowan I.R. & Farquhar G.D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthesis capacity. *Nature* 282: 424-425.

Woolhouse H.W. 1983. The effects of stress on photosynthesis. *In Effects of Stress on Photosynthesis* (R. Marcelle, H. Clijsters e M. van Poucke., eds.), pp. 1-28. Nijhoff M. e Junk W. Publishers. Advances in Agricultural Biotechnology. The Hague, The Netherland.

Wright G.C., Hubick K.T., Farquhar G.D. & Nageswara Rao R.C. 1993. Genetic and environmental variation in transpiration efficiency and its correlation with carbone isotope discrimination and specific leaf area in peanut. *In Stable Isotopes and Plant Carbon-Water Relations* (J.R. Ehleringer, A.E.Hall & G.D.Farquhar, eds.), pp. 247-267. Academic Press, San Diego, USA.

Wright G.C., Nageswara Rao R.C. & Farquar G.D. 1994. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in peanut under water deficit conditions. *Crop Sci.* 34: 92-97.

Wright G.C., Smith R.C.G. & Morgan J.M. 1983. Differences between two grain sorghum genotypes in adaptation to drought stress. III Physiological responses. *Aust. J. Agric.Res.* 34: 637-651.

Young A. J. 1991. The protective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83: 702-708.

Young A.J. & Britton G. 1990. Carotenoids and stress. *In Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Vol. 12, (R.G. Alsher R. e J.R. Cumming, eds.), pp. 87-112. Plant Biology Series, New York, USA.

Zhang J. & Kirkham M.B. 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol.* 35: 785-791.

Zuñiga-Fodil Y., Vazquez-Tello A. & Vieira da Silva J. 1990. Effect of water deficit on cell permeability and on chloroplast integrity. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.* 137: 115-123.

Zúñiga G.E., Fernandez J., Cristi R., Alberdi M. & Corcuera L.J. 1990. Lipid changes in barley seedlings subjected to water and cold stress. *Phytochem.* 29: 3087-3090.

