

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Departamento de Botânica
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Tese

**ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS
DO GÊNERO *Prunus***

Emanuela Garbin Martinazzo

Pelotas, 2011

EMANUELA GARBIN MARTINAZZO

**ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS
DO GÊNERO *Prunus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof^o Marcos Antonio Bacarin, Dr.

Co-Orientador: Prof^o Valmor João Bianchi, Dr.

PELOTAS
Rio Grande do Sul – Brasil
Novembro de 2011

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

M378a Martinazzo, Emanuela Garbin

Atividade fotossintética em plantas do Gênero Prunus /
Emanuela Garbin Martinazzo ; orientador Marcos Antonio
Bacarin ; co-orientador Valmor João Bianchi - Pelotas,2011.-59f. :
il.- Tese (Doutorado) . –Programa de Pós-Graduação em
Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de
Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Prunus 2.Fluorescência da clorofila 3.Teste -JIP 4.Trocas
gasosas 5.Alagamento 6.Déficit hídrico I.Bacarin, Marcos
Antonio(orientador) II. Título.

CDD 634.25

Banca examinadora:

Marcos Antonio Bacarin, Dr.

Nei Fernandes Lopes, PhD.

Leonardo Ferreira Dutra, Dr.

Luis Osmar Braga Schuch, Dr.

“Mas não basta p’ra ser livre
Ser forte, aguerrido e bravo
Povo que não tem virtude
Acaba por ser escravo”

(Hino Rio-Grandense)

*Aos meus pais, Altair e Cleonice,
pelo amor,
pelo apoio e
por acreditarem e confiarem em mim...
...com amor ofereço.*

Ao meu irmão Luiz Antonio e ao
meu namorado Tiago...
...dedico

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de estudos;

À Universidade Federal de Pelotas, em especial o Departamento de Botânica, Setor de Fisiologia Vegetal, ao proporcionar condições para a realização desta pesquisa;

Ao Prof^o Dr Marcos Antonio Bacarin, por confiar sua orientação.... pelo apoio, atenção e amizade... por cada “te vira” e incentivo a estudar sempre mais...

Aos professores, em especial Leonardo Ferreira Dutra, Luis Osmar Braga Schuch, Nei Fernandes Lopes, pela participação na banca examinadora. Aos demais, pelos ensinamentos durante o curso.

Aos amigos Sidi e Danda. Aos colegas do Laboratório de Metabolismo Vegetal: Ane, Cris, Marília, Janete, Camila, Anderson e Lulu... Dani, Fábio, Aline, Pablo, Buiu e Márcio...

A amiga Miriam, pela amizade duradoura...

A parte mais importante de mim, meus pais, Altair e Cleonice, por me ensinarem que o maior aprendizado da vida é a simplicidade...

Ao meu irmão, Luiz Antonio, pelas brincadeiras, pela companhia... ao Cuca e a Nina, minha irmã de sangue...

Ao meu namorado, Tiago, pela paciência e compreensão...

A Bella, minha mineirinha, que me faz feliz sempre.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	iii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS.....	Erro! Indicador não definido.
CAPÍTULO I - Fluorescência da clorofila <i>a</i> em plantas de pessegueiro da cultivar maciel enxertada sobre diferentes porta-enxertos.....	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	15
3 RESULTADOS	19
4 DISCUSSÃO	27
5 CONCLUSÕES	30
6 REFERENCIAS.....	30
CAPÍTULO II - Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento.....	34
1 INTRODUÇÃO	35
2 MATERIAL E MÉTODOS	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38

4 CONCLUSÃO.....	44
5 AGRADECIMENTOS	44
6 REFERENCIAS.....	45
CAPÍTULO III - Atividade fotossintética em porta-enxerto híbrido de pessegueiro submetido à restrição hídrica e alagamento.....	48
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4 CONCLUSÃO.....	56
5 AGRADECIMENTOS	56
6 REFERENCIAS.....	56
CONCLUSÃO GERAL	59

RESUMO

MARTINAZZO, Emanuela Garbin. Universidade Federal de Pelotas, Novembro de 2011. **Atividade fotossintética em plantas do gênero *Prunus***. Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin; Co-orientador: Prof. Dr. Valmor João Bianchi

O crescimento e o desenvolvimento de plantas da família das rosáceas apresentam variações dos processos fisiológicos durante o ciclo anual. Espécies vegetais que ocorrem ao longo de um ambiente heterogêneo estão sujeitas as condições de múltiplos estresses devido à variedade das condições climáticas. Nesse contexto, o estresse hídrico, por alagamento ou déficit, tem profundo impacto sobre sistemas ecológicos e agrícolas. A cinética da fluorescência da clorofila *a*, apresenta-se bastante sensível ao estresse ambiental e, pequenas alterações de estrutura e funcionamento, podem ser facilmente detectadas por meio da sua análise. Este trabalho foi dividido em três experimentos, com o objetivo de avaliar a variação da cinética da fluorescência da clorofila *a* em plantas do gênero *Prunus*. O primeiro foi conduzido a campo, no Centro Agropecuário da Palma, com seis tratamentos (porta-enxertos) associados a cultivar copa Maciel. Foram acompanhadas por um período de aproximadamente 150 dias o comprimento da folha, o índice de clorofila e a cinética da fluorescência da clorofila *a*. O segundo e terceiro experimento, foram conduzidos em casa de vegetação com a cultivar de ameixeira América (*P. salicina*) e a cultivar-copa do híbrido “GxN-9” (*P. dulcis* Mill. X *P. persica* L. Batsch) respectivamente. Em ambos os experimentos, as plantas foram mantidas durante 11 dias sob restrição hídrica e 10 dias de alagamento, totalizando três tratamentos (controle, seca e alagamento do solo). Análise de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, foram acompanhados regularmente a cada três dias. Durante o experimento 1 a variação dos parâmetros de fluorescência sofreu interferência da ontogenia das folhas e principalmente, da alta pluviosidade registrada aos 97 dias do

início do experimento. Pela análise do Teste-JIP danos ao sistema fotossintético foram verificados juntamente com a melhor associação da cultivar copa Maciel com o porta-enxerto Rubirá. No experimento 2, plantas de ameixeira submetidas aos estresses hídricos, apresentaram redução na fotossíntese devido a redução da condutância estomática e ao acréscimo no fluxo de dissipação por centro de reação (DI/RC) fato mais marcante sob condições de déficit hídrico. Já no experimento 3, a menor atividade fotossintética do híbrido “GxN-9” está relacionada com a diminuição da eficiência de carboxilação, enquanto o rendimento quântico do transporte de elétrons foi mais afetado pelo alagamento. Assim, os resultados sugerem que plantas de ameixeira, cultivar América são mais sensíveis às condições de déficit hídrico e, o porta-enxerto híbrido “GxN-9”, às condições de alagamento do solo.

Palavras chave: *Prunus*, Fluorescência da clorofila *a*, Teste-JIP, Trocas gasosas, Alagamento, Déficit hídrico.

ABSTRACT

MARTINAZZO, Emanuela Garbin. Federal University of Pelotas, in November 2011.
Photosynthetic activity in plants of the genus *Prunus*. Advisor Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin; Co-advisor: Prof. Dr. Valmor João Bianchi.

The growth and development of plants of the rosaceae family present variations of physiological processes during the annual cycle. Plant species that occur over a heterogeneous environment are subject to conditions of multiple stresses due to the variety of weather conditions. In this context, water stress, flooding or deficit, has a profound impact on ecological and agricultural systems. The kinetics of chlorophyll a fluorescence is a quite sensitive to environmental stress, and small changes in structure and operation, can be easily detected by their analysis. This work was divided into three experiments, with the aim of evaluating the variation of the kinetics of chlorophyll fluorescence in the plants of the genus *Prunus*. The first was conducted in the field, the Centro Agropecuário da Palma, with six treatments (rootstocks) associated with Maciel. They were accompanied by a period of approximately 150 days the length of the leaf chlorophyll content and chlorophyll a fluorescence kinetics. The second and third experiments were conducted in a greenhouse to cultivate plum America (*P. salicina*) cultivar and hybrid-cup "GxN-9" (*P. dulcis* Mill. X *P. persica* L. Batsch) respectively. In both experiments, plants were kept for 11 days under water restriction and 10 days of flooding, with three treatments (control, drought and flooding). Analysis of gas exchange and chlorophyll a fluorescence were monitored regularly every three days. During the experiment a variation of fluorescence parameters are affected by ontogeny of the leaves and especially the high rainfall recorded at 97 days of the beginning of the experiment. By

analyzing of JIP-Test, damage to the photosynthetic system were checked, along with the best association with Maciel x rootstock Rubirá. In experiment 2, plum plants subjected to water stress, showed a reduction in photosynthesis due to reduced stomatal conductance and the increase in the flow dissipation by reaction center (DI/RC) most striking under conditions of water deficit. In the third experiment, the lowest photosynthetic activity of the hybrid "GxN-9" is related to the decrease in carboxylation efficiency, while the quantum yield of electron transport was more affected by flooding. Thus, the results suggest that plants plum America is growing more sensitive to water deficit conditions, and the rootstock hybrid "GxN-9", the conditions of soil flooding.

Keywords: *Prunus*, Chlorophyll a fluorescence, JIP-Test, Gas Exchange flooding, water deficit

INTRODUÇÃO GERAL

O Rio Grande do Sul, principal Estado em área de cultivo de frutíferas do gênero *Prunus* (*P. persica* L. Bastch e *P. salicina* Lindl), apresenta dois pólos de exploração do setor frutícola, localizados um na região de Pelotas, cuja produção é destinada predominantemente para a indústria e outro na região da Serra do Nordeste destinando-se para o mercado *in natura* (HERTER, 2002).

O sucesso do cultivo de frutíferas de caroço, como pessegueiro e ameixeira dependem da utilização de mudas com qualidade garantida e boas práticas de manejo para obtenção de elevada produtividade do pomar (ROCHA et al., 2007). O crescimento e desenvolvimento das rosáceas apresentam variações dos processos fisiológicos durante o ciclo anual tais como aqueles relacionados à fotossíntese, translocação de fotoassimilados e acúmulo de reservas. Os períodos de iniciação e de máxima atividade dos processos fisiológicos são altamente dependentes da cultivar, da localização da área de cultivo, do tipo de solo e do ambiente (HERTER, 2002).

Espécies do gênero *Prunus* são multiplicadas principalmente por enxertia (ROM e CARLSON, 1987 *apud* MALCOLMA et al., 2007). Segundo Fachinello; Hoffmann; Nachtigal (1995), 100% das plantas de pessegueiro são propagadas por esta técnica. O grande número de porta-enxertos utilizados na produção para esse gênero varia quanto à resistência a pragas e tolerância a condições edáficas (ROM; CARLSON, 1987 *apud* MALCOLMA et al., 2007). Associado a este fato, a cultivar-copa ou enxerto deve atender à demanda do mercado de modo a proporcionar produção de alta qualidade voltada ao consumo *in natura* ou para a indústria (ROCHA et al., 2007).

Existem porta-enxertos com grande diversidade genética, e assim, com características diferenciadas de tolerância à pragas, doenças, as diferentes condições de clima e solo, com adequado desempenho em diferentes regiões e almejada compatibilidade com cultivares copa (RODRIGUES et al., 2004). Porém, inúmeros relatos na literatura indicam que a compatibilidade entre o porta-enxerto e a cultivar copa é um fator preponderante para o sucesso da enxertia.

Os principais sintomas morfofisiológicos da incompatibilidade entre porta-enxerto e cultivar copa são: a falta de união vascular entre enxerto e porta-enxerto; as diferenças de crescimento ou no vigor do enxerto e do porta-enxerto, resultando em marcante diferença entre os diâmetros dos mesmos, com excessivo desenvolvimento abaixo, acima ou no ponto de união; o amarelecimento das folhas seguido de desfolhamento precoce; crescimento vegetativo reduzido; diferenças entre o enxerto e porta-enxerto com relação ao início e final do período vegetativo e a morte prematura de plantas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 1995).

As regiões de clima temperado são caracterizadas pela sazonalidade dos fatores ambientais, sendo que as condições climáticas são ideais para o crescimento das plantas por um período limitado de tempo, devido principalmente, às estações mais quente e fria (SALMELA et al., 2011). Do mesmo modo, as condições hídricas durante as fases vegetativas e reprodutivas das plantas apresentam oscilações que, dependendo da intensidade, trazem prejuízos à produção comercial de frutíferas de clima temperado. Contudo, algumas plantas apresentam capacidade de adaptar-se a estas variações ambientais, alternando entre períodos ativos de crescimento e dormência (SALMELA et al., 2011).

Quando uma espécie vegetal ocorre ao longo de um ambiente heterogêneo, o problema básico da cultura reside na adaptabilidade à variedade das condições ambientais, pois essas espécies estão sujeitas as condições de múltiplos estresses, os quais limitarão seu crescimento e desenvolvimento (LARCHER, 2006).

Quando um sistema biológico é perturbado por estressores de origens diversas, há um conjunto de reações capazes de perturbar o equilíbrio interno desse sistema. Nesse contexto, Strasser (1988) cunha o termo estresse como toda condição estabelecida na qual as forças de um sistema estão fora de seu estado termodinâmico ideal, sendo que este estado ideal ocorre quando um sistema biológico encontra-se em plena harmonia com seu ambiente. Ainda, segundo

Larcher (2006), o estresse pode ser descrito como um estado em que crescentes demandas são feitas sob a planta a fim de levar a uma desestabilização inicial de suas funções, seguida de normalização e aumento de resistência. Entretanto, se os limites de tolerância forem ultrapassados e a capacidade adaptativa for sobrecarregada, podem ocorrer danos permanentes ou mesmo a morte da planta.

Nesse contexto, o estresse hídrico, por alagamento ou déficit hídrico tem profundo impacto sobre os sistemas ecológicos e agrícolas, tendo em vista que as reações da planta a esses estresses diferem em vários níveis de organização, dependendo da intensidade e da duração do estresse, bem como da espécie ou estágio de desenvolvimento (SHAO et al., 2008).

Embora todas as plantas superiores necessitem de água, seu excesso na região das raízes pode causar injúrias ou até ser letal, devido ao bloqueio da transferência do oxigênio e outros gases entre o solo e a atmosfera (DREW, 1997). Durante o alagamento, as plantas são expostas a redução do fornecimento de oxigênio ao sistema radicular devido à lenta taxa de difusão desse gás na água (SAIRAM et al., 2008). O alagamento influencia a sobrevivência, o crescimento e a produtividade das plantas terrestres (PEZESHKI, 2001). A diminuição da disponibilidade de O_2 no solo resulta em alterações nas trocas gasosas foliares, na absorção de nutrientes minerais, no balanço hormonal (KOZLOWSKI; KRAMER; PALLARDY, 1991), na translocação de fotoassimilados e na produção de biomassa (LARCHER, 2006), entre outras respostas morfofisiológicas.

Por outro lado, o déficit hídrico pode ocorrer quando o solo não contém água disponível às plantas, ou quando o solo contém água disponível, mas a planta não é capaz de absorvê-la em velocidade e quantidade suficiente para atender à demanda transpiratória (JONES, 1992). O efeito do déficit hídrico sobre o vegetal é variável e depende do tempo de estresse que a planta é submetida. Embora a redução na taxa de perda de água possa representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido, também acarreta a restrição à difusão de CO_2 para dentro da folha, causado pelo fechamento estomático e, conseqüentemente, a redução do metabolismo do carbono (TEZARA et al., 1999).

Uma das principais estratégias para melhorar a produtividade das culturas é a compreensão dos processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos que são alterados por determinados tipos de estresses. Sabe-se que o padrão sazonal da atividade

fotossintética é variável entre populações que crescem sob condições de campo e, ou sob estresses abióticos.

Efeitos específicos do estressor, geralmente tem alvo definido na planta e envolvem todos os níveis funcionais, principalmente os genéticos. Já aqueles denominados não específicos são caracterizados pelas alterações nas propriedades das membranas, aumento da respiração, redução da matéria seca, inibição da fotossíntese, entre outros (LARCHER, 2006). O metabolismo fotossintético é um dos principais processos afetados pelo estresse. As taxas de assimilação de carbono pelas folhas podem variar por causa de flutuações na radiação, situações de seca ou altas temperaturas, por exemplo, que restringem a assimilação de carbono (EBERHARD, TINAZZI; WOLLMAN, 2008), conseqüentemente, é essencial que a energia de excitação que chega aos centros de reação dos fotossistemas, seja regulada, para evitar danos irreversíveis ao aparato fotossintético (BAKER, HARBINSON; KRAMER, 2007).

Técnicas que fornecem informações relacionadas às etapas da fotossíntese permitem análise dos fatores envolvidos na regulação do uso da energia luminosa e do transporte de elétrons, além do metabolismo bioquímico da assimilação de carbono. Cada técnica apresenta seu próprio conjunto de parâmetros, que somadas contribuem para o entendimento do processo fotossintético das plantas, principalmente sobre condições de estresse.

A cinética da fluorescência da clorofila *a*, apresenta-se bastante sensível ao estresse ambiental e, mesmo pequenas alterações de estrutura e funcionamento, podem ser facilmente detectadas por meio da sua análise (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004).

Quando cloroplastos são iluminados, a energia luminosa é capturada pelos fotossistemas, resultando na oxidação da água e os elétrons são direcionados, por meio de transportadores, até a ferredoxina, reduzindo-a, sendo que a seguir ocorre a redução do NADP⁺. Este processo é caracterizado como uma cascata de fluxo de energia, onde podem ser definidos vários eventos biofísicos.

Pela análise da cinética da fluorescência da clorofila *a*, registrada com alta resolução (na faixa de micro-segundos para segundos) (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008), tornou-se possível estimar a absorção de energia pelos pigmentos do sistema antena, a captura de um éxciton pelo centro de reação e,

consequente transporte de elétrons para o acceptor final de elétrons (YUSUF et al., 2010).

Sob alta irradiância, a excitação da clorofila de folhas adaptadas ao escuro, permite visualizar a cinética da fluorescência como polifásica, expressando o efeito Kautsky. Esta cinética exhibe a seqüência de passos, definidos como O, J, I e P, os quais refletem o sucessivo preenchimento do pool dos aceptores de elétrons do fotossistema II (FSII) (LAZÁR, 2006; EULLAFFROY et al., 2009, YUSUF, et al., 2010).

O passo O (F_0), é denominado como rendimento mínimo da fluorescência da clorofila *a*, J é reflexo do acúmulo de Q_A^- e, os passos I e P representam redução parcial e total do pool de Q_B^- , respectivamente, em adição ao acúmulo de Q_A^- (LAZÁR, 2006). A análise da cinética de emissão de fluorescência por meio de normalizações e subtrações (YUSUF et al., 2010), permite que sejam identificadas varias bandas. O aparecimento das bandas L e K, podem ajudar a compreender a conectividade entre as unidades do FSII e a inativação do complexo de evolução de oxigênio respectivamente (YUSUF et al., 2010).

A análise da cinética de emissão de fluorescência ganhou grande impulso a partir do desenvolvimento do Teste-JIP (STRASSER; STRASSER, 1995), pelo qual é possível quantificar *in vivo* os fluxos de energia que passam pelos fotossistemas, avaliar a performance fotossintética das plantas, e analisar a função do FSII, refletindo a taxa do fluxo de transporte de elétrons no interior da membrana dos tilacóides e ao subsequente funcionamento da ferredoxina-NADP oxirredutase e do ciclo de Calvin (SZILVIA et al., 2007). A facilidade no uso do Teste-JIP conduziu a sua ampla utilização em estudos de fisiologia vegetal de maneira que os dados obtidos, por fluorômetros de alta resolução, permitem avaliar e analisar a fluorescência transiente (OJIP) da clorofila *a* fornecendo informações precisas e representativas das condições fisiológicas sob as quais a planta se encontra em resposta a determinada condição ambiental (BUSSOTTI; NALLI; LORENZINI, 2011, STIRBET; GOVINDJEE, 2011).

A fluorescência da clorofila *a* tem sido empregada com ferramenta em estudos ecológicos voltados a investigação de respostas da planta submetida a múltiplos fatores de estresse (ADAMS III; DEMMIG-ADAMS, 2004), como: respostas a fatores climáticos (OGAYA et al., 2011) ação de herbicidas (CHEN et al., 2011);

salinidade (METHA et al., 2010); déficit hídrico (LAWLOR; TEZARA, 2009) e alagamento (PANDA et al., 2006) o que faz com que na agricultura, estas técnicas venham sendo amplamente utilizadas para selecionar genótipos em relação à sua resistência à seca e alagamento (OUKARROUM et al., 2007, OUKARROUM; SCHANSKER; STRASSER, 2009). Similarmente, experiências em plantas lenhosas e árvores foram realizadas para selecionar indivíduos adequados para condições de ambiente urbano (BUSSOTTI et al., 2011b; BUSSOTTI et al., 2011c).

Atualmente, a fluorescência da clorofila *a*, além de amplamente empregada em investigações do transporte de elétrons é utilizada para a compreensão do processo de assimilação de CO₂ em folhas. Entretanto, se faz essencial combinação entre técnicas existentes para o exame da regulação dos fluxos de elétrons e prótons (BACKER; HARBINSON; KRAMER, 2007). Conjuntamente, estudos envolvendo trocas gasosas por meio de analisadores de gases no comprimento de onda infravermelho possibilitam a compreensão detalhada do metabolismo fotossintético, agrupando o metabolismo fotoquímico e bioquímico da fotossíntese.

As trocas gasosas envolvem parâmetros que permitem compreender os mecanismos que regulam a entrada de CO₂ e a perda de água pelas folhas. Ainda, possibilitam o entendimento do mecanismo de abertura e fechamento estomático e dos processos associados à fotoproteção. Tais eventos apresentam importância significativa para a sobrevivência vegetal, em ambientes onde a planta é submetida a períodos prolongados de estresse (ENNAHLI; EARL, 2005).

Vários trabalhos sobre os efeitos de diferentes estresses têm sido realizadas com o propósito de compreender as respostas do metabolismo fotossintético (BUSSOTTI et al., 2011b, OGAYA et al., 2011, SAMOILOVA et al., 2011). A taxa fotossintética é influenciada, entre outros fatores, pela idade da folha e sua posição sobre o caule e a copa, além da presença de frutos e a disponibilidade de radiação diária e sazonal, porém faltam informações mais detalhadas sobre as características de fluorescência durante o desenvolvimento da folha (PROETTI et al., 2000). O primeiro sintoma em resposta ao estresse devido ao déficit hídrico é caracterizado pelo fechamento estomático a fim de prevenir a perda de água pela folha (ROUHI et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a variação da cinética de fluorescência da clorofila *a* durante uma estação de crescimento de plantas de

pêssegueiro cv. Maciel (*Prunus persica*) enxertada em seis porta-enxertos sob condição de campo e determinar o efeito dos estresses por alagamento e déficit hídrico em mudas de ameixeira cv. América (*Prunus salicina* Lindh.) e porta-enxerto para pessegueiro 'GxN-9' (*Prunus dulcis* Mill. x *Prunus persica* L. Bastsch) cultivadas em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS

ADAMS III, W.W., DEMMIG-ADAMS, B., Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. In: PAPAGEORGIOU, G.C., GOVINDJEE (Eds.), **Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**, Advances in Photosynthesis and Respiration Series. Springer, Dordrecht, NL, p. 583–604. 2004.

BAKER, N.R; HARBINSON, J; KRAMER, D.M. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves **Plant, Cell and Environment**. v.30, p.1107–1125, 2007.

BUSSOTTI, F., NALI, C; LORENZINI, G. Chlorophyll fluorescence: From theory to (good) practice. An introduction. **Environmental and Experimental Botany** v. 73, p.1-2, 2011a.

BUSSOTTI, F; POLLASTRINI, M; CASCIO, C; DESOTGIU, R; GEROSA, G; MARZUOLI, R; NALI, C; LORENZINI, G; PELLEGRINI, E; GIOVANNA, M; SALVATORI, C.E; FUSARO, L; PICCOTTO, M; MALASPINA, P; MANFREDI, A; ROCCOTELLO, E; TOSCANO, S; GOTTARDINI, E; CRISTOFOR, A; FINI, A; WEBER, D; BALDASSARREK, V; BARBANTI, L; MONTI, A; STRASSER, R.J. Conclusive remarks. Reliability and comparability of chlorophyll fluorescence data from several field teams. **Environmental and Experimental Botany** v. 73, p.116-119, 2011b.

BUSSOTTI. F., DESOTGIU. R., CASCIO. C., POLLASTRINI. M., GRAVANO. E., GEROSA. G., MARZUOLI. R., NALI. C., LORENZINI. G., SALVATORI. E., MANES. F., SCHAUBE. M., STRASSER. R.J. Ozone stress in woody plants assessed with chlorophyll a fluorescence. A critical reassessment of existing data. **Environmental and Experimental Botany**, v.73, p.19-30, 2011c.

CHEN, S., ZHOU, F., YIN, C., STRASSER, R.J., YANG, C., QIANG, S. Application of fast chlorophyll a fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5 isopropyltetramic acid. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 269-279 2011.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and Acclimation Under Hypoxia and Anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v.48, p.223–250, 1997.

EBERHARD, S; FINAZZI, G; WOLLMAN, F. The Dynamics of Photosynthesis **The Annual Review of Genetics**, v.42, p. 463–515, 2008.

ENNAHLI, S; EARL, H.J. Physiological Limitations to Photosynthetic Carbon Assimilation in Cotton under Water Stress. **Crop Science**, v. 45, p. 2374-2382, 2005.

EULLAFFROY, P; FRANKART, C; AZIZ, A; COUDERCHET, M; BLAISE, B. Energy fluxes and driving forces for photosynthesis in *Lemna minor* exposed to herbicides. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 90, p.172–178, 2009.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: Editora e Gráfica UFPEL, 178 p. 1995.

HERTER, F. G. **Zoneamento agroclimático do pessegueiro e da nectarina para o Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 27p. - (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 91), 2002.

JONES , H.G. **Plants and microclimate**. Cambridge University Press, Cambridge. 428p. 1992.

KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. L.; PALLARDY, S. G. **The physiological ecology of woody plants**. Academic Press, 657 p. 1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Editora RiMa, São Carlos. 531p. 2006.

LAWLOR, D. W., TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany** v.103, p.561–579, 2009.

LAZÁR, D. The Polyphasic chlorophyll a fluorescence rise measured under high intensity of exciting light. **Functional Plant Biology**. v. 33, p. 9-30, 2006.

MALCOLMA, P; HOLFORD, P; McGLASSON, B; CONROY, J ; BARCHIA, I. Growth and its partitioning in *Prunus* rootstocks in response to root zone temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 112, p. 58–65, 2007.

MEHTA, P; JAJOO, A; MATHUR, S; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**. v.48, p.16-20, 2010.

OGAYA, NUELAS, J; ASENSIO, D; LLUSIÀ, J. Chlorophyll fluorescence responses to temperature and water availability in two co-dominant Mediterranean shrub and tree species in a long-term field experiment simulating climate change **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 123–127, 2011.

OUKARROUM, A., S.E. MADIDI., G. SCHANSKER. AND R. J. STRASSER. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 438–446, 2007.

OUKARROUM, A., SCHANSKER, G., STRASSER, R.J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiologia Plantarum** v.137, p.188–199, 2009.

PANDA, D.; RAO, D. N.; SHARMA, S. G.; STRASSER, R. J.; SARKAR, R. K. Submergence effects on rice genotypes during seedling stage: probing of submergence driven changes of photosystem 2 by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients. **Photosynthetica**, v. 44, p. 69-75, 2006.

PEZESHKI, S. R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, p. 299-312, 2001.

PROIETTI, P; PALLIOTTI, A; FAMIANI, F; ANTOGNOZZI, E; FERRANTI, F; ANDREUTTI, R; FRENGUELLI, G. Influence of leaf position, fruit and light availability on photosynthesis of two chestnut genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 85, p. 63-73, 2000.

ROCHA, M. S; BIANCHI, V.J; FACHINELLO, J. C; SCHMITZ, J. D; PASA, M. S. S; SILVA, J. B. Comportamento agrônômico inicial da cv. Chimarrita enxertada em cinco porta-enxertos de pessegueiro **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 583-588, 2007.

RODRIGUES, A. C; FACHINELLO, J. C; SILVA, J. B; FORTES, G. R. de L; STRELOW, E. Compatibilidade entre diferentes combinações de cvs. Copas e porta-enxertos de *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p. 185-189, 2004.

ROUHI, V; SAMSON, R; LEMEUR, R; VAN DAMME, P. Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery **Environmental and Experimental Botany**, v.59,p. 117–129, 2007.

SAIRAM, R. K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA, G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v. 52, n. 3, p. 401-412, 2008.

SALMELA, M. J; CAVERS, S; COTTRELL, J. E; IASON, G. R; ENNOS, R. A. Seasonal patterns of photochemical capacity and spring phenology reveal genetic differentiation among native Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in Scotland. **Forest Ecology and Management**, v. 262, p. 1020–1029, 2011.

SAMOILOVA, O.P; PTUSHENKO, V.V; KUVYKINC, I.V; KISELEVD, S.A; PTUSHENKOE, O.S; TIKHONOVA, A.N. Effects of light environment on the induction of chlorophyll fluorescence in leaves: A comparative study of Tradescantia species of different ecotypes, **BioSystems**, v. 105, p. 41–48, 2011.

SHAO, H.B., CHU, L.Y JALEEL, C.A, ZHAO, C. X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes. Rendus. Biologies** v.331 p. 215–225, 2008.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and. Photobiology B: Biology**, v.104, p. 236-257, 2011.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed.), *Photosynthesis: from light to biosphere*, Kluwer **Academic Publisher: Dordrecht, The Netherlands**, p. 977-980, 1995.

STRASSER, R. J. A concept for stress and its application in remote sensing. In: LICHTENTHALER, H. K. (Ed.), **Applications of Chlorophyll Fluorescence**. Kluwer Academic Publishers, p. 333-337, 1988.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. **Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**, Analysis of the chlorophyll a Fluorescence Transient. Chapter 12, Spring. Printed in The Netherlands, v. 14, p. 321-362, 2004.

SZILVIA, Z; SCHANSKER, G; GARAB, G; STRASSER, R. Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: The role of internal alternative electron donors to photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1767, p.295–305, 2007.

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

TSIMILLI-MICHAEL, M; STRASSER, R.J. In vivo assessment of plants vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. In: A. VARMA, A. (Ed) **Mycorrhiza**. Uttar Pradesh, India., p.679-703, 2008.

YUSUF, M.A., KUMAR, D. RAJWANSHI, R., STRASSER, R.J., TSIMILLI-MICHAEL, M., GOVINDJEE, SARIN, N.B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll fluorescence measurements, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797 p.1428–1438, 2010.

CAPÍTULO I

FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* EM PLANTAS DE PESSEGUEIRO DA CULTIVAR MACIEL ENXERTADA SOBRE DIFERENTES PORTA-ENXERTOS

Chlorophyll a fluorescence in peach cultivar Maciel grafted on different rootstocks

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar características da fluorescência da clorofila *a* em plantas de pessegueiro da cv. Maciel enxertadas em seis diferentes porta-enxertos. As análises da fluorescência da clorofila *a*, do índice de clorofila e do comprimento das folhas iniciaram após o período invernal e foram repetidas até aproximadamente 150 dias, totalizando seis coletas. O início da ontogenia das folhas foi caracterizado por alguns parâmetros de fluorescência mais elevados. Elevada pluviosidade, ocorrida entre os dias 61 e 112 do início do experimento, foi fator ambiental que causou maior alteração nos parâmetros do Teste-JIP, principalmente aqueles relacionados ao fotossistema I. O índice de clorofila não foi influenciado pelo efeito das associações copa x porta-enxerto. Queda nos valores de PI_{TOTAL} foram verificadas no período de maior precipitação, comportamento que foi independente dos porta-enxertos, exceto para as plantas enxertadas no porta-enxerto Rubirá, que apresentaram menores danos ao aparato fotossintético. De forma geral a associação copa Maciel com os porta-enxertos estudados, não afetaram a absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo sistema fotossintético.

Palavras-chave: Crescimento foliar, Teste-JIP, Compatibilidade

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the characteristics of chlorophyll fluorescence in peach plants cv. Maciel grafted on six different rootstocks. Analyses of chlorophyll *a* fluorescence, the chlorophyll content and the length of the leaves began after the winter and were repeated until approximately 150 days, totaling six collections. The early ontogeny of the leaves was characterized by some higher fluorescence parameters. High rainfall that occurred between 61 and 112 days of the beginning of the experiment was that the environmental factor caused a greater change in the parameters of the JIP-test, especially those related to photosystem I. The chlorophyll content was not influenced the effect of associations

cup x rootstock. Fall in the PI_{TOTAL} were in the period of greatest rainfall, behavior that was independent of the rootstocks, except for the grafted plants in the Rubirá, which had less damage to the photosynthetic apparatus. Of overall the association cv. Maciel with the rootstocks studied, did not affected the absorption and utilization of light energy by the system photosynthetic.

Keywords: leaf growth, JIP Test, compatibility

1 INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul é o principal Estado brasileiro em área de cultivo de rosáceas, respondendo por mais de 50% da produção nacional (HERTER, 2002). Apesar disso, a produtividade média do estado é uma das mais baixas do país, tal fato é decorrente, entre outros fatores, do manejo da cultura e oscilações climáticas. Estudos das alterações edafoclimáticas sobre a produção vegetal têm tomado grandes dimensões, principalmente através do uso de modelos matemáticos que levam em conta, de forma quantitativa, o comportamento do clima e da vegetação (TAO et al., 2006).

O sucesso do cultivo de pessegueiro na região sul do Estado do Rio Grande do Sul, depende de alguns requisitos importantes, entre os quais: i. utilização de cultivares-copa que atendam à demanda do mercado, com frutas de alta qualidade para o consumo *in natura* ou para a indústria; ii. cultivares adaptadas as condições de inverno ameno e, iii. mudas com qualidade garantida para obtenção de elevada produtividade do pomar. Além disso, o porta-enxerto utilizado é outro fator importante a ser considerado, pois é a parte constituinte da planta responsável pela absorção de água, nutrientes, ancoragem, dentre outras características, podendo influenciar a resposta produtiva da cultivar-copa em função das condições edafoclimáticas do local de plantio.

A enxertia é técnica que consiste na união morfofisiológica entre enxerto e porta-enxerto e seu sucesso é indicado pelo reestabelecimento do fluxo de água e nutrientes das raízes para a parte aérea e de fotoassimilados das folhas para as raízes (GOTO; SANTOS; CAÑIZARES, 2003). Envolve o emprego de espécies ou de cultivares diferentes, com particularidades específicas quanto à fisiologia, bioquímica e anatomia, o que influencia na compatibilidade entre enxerto e porta-

enxerto, bem como nas características agronômicas da cultivar copa (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL et al., 1995).

A incompatibilidade entre determinada cultivar copa e o porta-enxerto proporciona inúmeros problemas, de difícil solução após a implantação do pomar, podendo limitar a sua viabilidade econômica (RODRIGUES et al., 2004). Os sintomas da incompatibilidade podem ser relacionados à falta de união entre tecidos do porta-enxerto e da cultivar copa, e fisiologicamente, pode ser relacionada à quantidade e composição dos fotoassimilados, bem como o transporte de solutos entre raiz e parte aérea.

Atualmente, existem variados porta-enxertos para o pessegueiro, pertencentes a diferentes espécies do gênero *Prunus* e que possuem características distintas, a exemplo, exigência em frio, resistência a nematóides, bacteriose e fungos do solo (ESMENJAUD et al., 2009).

Plantas cultivadas em campo são frequentemente expostas a vários tipos de condições ambientais adversas, que afetam seu crescimento e metabolismo, conduzindo a reduções no rendimento da cultura (WANG et al., 2007, LARBI et al., 2006). A vitalidade de cada planta é dependente da capacidade de adaptação a determinadas condições ambientais e, qualquer mudança, é um fator de estresse que induz a uma perturbação da otimização do crescimento (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008). Alterações na fotossíntese sob condições de estresses ambientais é um item crucial para estudar a adaptação das comunidades de plantas (CASCIO et al., 2008), devido sua relação direta com a sobrevivência e crescimento dos vegetais (BAZZAZ, 1979).

Entre as ferramentas utilizadas para estudar os efeitos das mudanças ambientais sobre o aparato fotossintético, a fluorescência da clorofila *a* é método simples, rápido, sensível e não destrutivo, amplamente utilizado em investigações de danos e, ou reparo causados no sistema fotossintético das plantas, por vários tipos de estresse (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; STRIVASTAVA, 2004; EULLAFFROY et al., 2009).

Quando amostras fotossintéticas, adaptadas ao escuro, são iluminadas, a intensidade de fluorescência da clorofila *a* mostra uma evolução característica de um rápido aumento da fase de fluorescência transiente, denominada curva OJIP, seguido de uma fase caracterizada por uma diminuição lenta (YUSUF et al., 2010).

Os dados de intensidade de fluorescência transiente podem ser analisados por meio do Teste-JIP, desenvolvido por Strasser; Strasser (1995), a partir da teoria do fluxo de energia em biomembranas (STRASSER, 1981). O Teste-JIP é uma análise multiparamétrica do rápido aumento da fluorescência OJIP, onde O é a intensidade de fluorescência inicial, J e I são intensidades medidas a 2 e 30 ms, respectivamente, e P é a intensidade máxima da fluorescência da clorofila (STIRBET, GOVINDJEE, 2011). O uso dos parâmetros calculados pelo Teste-JIP permite a quantificação da eficiência de absorção e aproveitamento da energia luminosa através da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese. Além de avaliar a funcionalidade do fotossistema II (FSII), que reflete a taxa de transportes de elétrons no interior da membrana dos tilacóides e, subsequente funcionamento da ferredoxina-NADP oxirredutase e ciclo de Calvin (SCHANSKER et al., 2003).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características de fluorescência da clorofila *a* de plantas de pessegueiro da cultivar Maciel enxertada em diferentes porta-enxertos durante um ciclo de crescimento das plantas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização do estudo e seleção das espécies

O experimento foi conduzido no período compreendido entre agosto de 2009 e janeiro de 2010 no Centro Agropecuário da Palma, com latitude 31°52'S e longitude 52°21'W e altitude média de 13m acima do nível do mar, no Município do Capão do Leão, RS. O clima dessa região caracteriza-se por ser temperado com chuvas bem distribuídas e verão quente, sendo, pela classificação de Köppen, do tipo Cfa.

Os dados meteorológicos de temperatura mínima, máxima e média diária, e precipitação foram coletados durante o experimento, na Estação Agroclimatológica de Pelotas – Convênio EMBRAPA/UFPEL.

Plantas de pessegueiro com quatro anos, da cultivar copa Maciel, enxertadas sobre *seedlings* de seis porta-enxertos de *Prunus persica* (Indústria, Aldrighi, Tskuba, Okinawa Clone 2, Okinawa Clone 12 e Rubirá) foram utilizadas para as análises de fluorescência da clorofila *a*. Ressalta-se que o material identificado como

Indústria, refere-se a *seedlings* provenientes da indústria, portanto não tem identidade varietal.

Os pomares foram implantados no ano de 2005 com o espaçamento de 4,5m X 1m e sistema de condução em “Y”. Os tratamentos fitossanitários seguiram as recomendações técnicas específicas para o sistema de produção integrada de pêsegueo, com controle de plantas daninhas na linha, realizado quando necessário, por meio do controle mecânico de roçada ou capina manual, para evitar competição. As avaliações de fluorescência transiente OJIP das clorofilas, comprimento das folhas e índice de clorofila iniciaram em 27 de agosto de 2009, isto é, após o período invernal e quando as plantas apresentavam o início das brotações, sendo repetidas até aproximadamente 150 dias do início das coletas.

2.2 Comprimento da folha e Índice de clorofila

As folhas foram padronizadas de forma a utilizar-se sempre as mesmas em ramo do ano, e os mesmos ramos em todas as avaliações. O comprimento da folha foi medido pelo uso de régua milimetrada, acompanhando desde a inserção do pecíolo no limbo filiar até o final da nervura central. Os teores de clorofila foram estimados utilizando-se um medidor portátil de clorofila (CL-01 Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, UK), conforme metodologia descrita por Cassol et al. (2008), expressos pelo índice de clorofila. As mesmas folhas foram utilizadas nas medições da fluorescência da clorofila *a*.

2.3 Indução da fluorescência da clorofila *a* (O-J-I-P)

Utilizaram-se seis plantas de cada tratamento, associação dos diferentes porta-enxertos com a copa cv. Maciel, e duas medidas por planta, totalizando 12 repetições por tratamento. As medidas de fluorescência da clorofila foram realizadas em folhas intactas, ligadas a planta, e adaptadas previamente ao escuro por 30 minutos.

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida com o uso de um fluorômetro portátil (Handy-PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, UK), induzida pela luz vermelha (pico em 650 nm) de aproximadamente $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por um conjunto de três diodos emissores de luz, e gravados por 1s com resolução de 12 bit.

2.4 Teste-JIP

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi analisada de acordo com o Teste-JIP (STRASSER; SRIVASTAVA; TSIMILLI-MICHAEL, 2000; STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA; 2004; TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008), utilizando as intensidade de fluorescência medidas a: 50 μ s (fluorescência inicial – F_0), 2ms (fluorescência no ponto J – F_J), 30ms (fluorescência no ponto I – F_I), e a fluorescência máxima (F_M). A partir destas intensidades, foram calculados os fluxos específicos por centro de reação, eficiência ou rendimentos quânticos, e índices de performance, conforme apresentado na Tabela 1.

2.5. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x6 (seis combinações porta-enxerto x cultivar copa Maciel e seis coletas: 0, 28, 61, 97, 112, 152 dias após o início do experimento)

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1 – Resumo dos parâmetros, fórmulas e suas descrições usando dados extraídos da fluorescência transiente da clorofila *a* (OJIP)

Parâmetros da fluorescência	Descrição
<i>Parâmetros extraídos</i>	
F_t	Fluorescência no tempo t após início da iluminação actínica
F_0	Fluorescência mínima, onde todos os centros de reação (RC) do PSII estão abertos
F_m	Fluorescência máxima, onde todos os centros de reação (RC) do PSII estão fechados
$F_{50 \mu s}$	Intensidade da fluorescência a 50 μs
$F_{100 \mu s}$	Intensidade da fluorescência a 100 μs
$F_{300 \mu s}$	Intensidade da fluorescência a 300 μs
F_J	Intensidade da fluorescência no passo-J (2 ms)
F_I	Intensidade da fluorescência no passo-I (30 ms)
tF_m	Tempo (em ms) para chegar a F_m
Area	Área total complementar entre a indução da curva da fluorescência e F_m
<i>Parâmetros derivados</i>	
<i>Fluxos específicos ou atividades expressas por centro de reação (RC)</i>	
$ABS/RC = M_0/V_J/\phi_{P0}$	Fluxo de absorção por RC
$TR_0/RC = M_0/V_J$	Fluxo de energia capturado por RC no $t=0$
$ET_0/RC = (M_0=V_J) \times \psi_0 = (M_0 = V_J) \times (1 - V_J)$	Fluxo de transporte de elétrons por RC no $t=0$
$Dl_0/RC = ABS/RC - TR_0/RC$	Fluxo de energia dissipada por RC no $t=0$
$RE_0/RC = (RE_0/ET_0) \times (ET_0/RC)$	Redução do acceptor final de elétrons no lado acceptor de elétrons do FSI por RC no $t=0$
EC_0/RC	Número total de transportadores de elétrons por RC
<i>Rendimentos ou taxas de fluxos</i>	
$\phi_{P0} = TR_0/ABS = 1 - F_0/F_m = F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo fotoquímico primário em $t=0$
$\phi_{E0} = ET_0/ABS = (F_v/F_m) \times (1 - V_J)$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons
$\psi_{E0} = ET_0/TR_0 = 1 - V_J$	Probabilidade (no tempo t) que o éxciton capturado mova elétrons para a CTE além de Q_A^-
$\phi_{D0} = 1 - \phi_{P0} = F_0/F_m$	Rendimento quântico no $t=0$ para dissipação de energia
$\delta_{R0} = RE_0/ET_0 = (1 - V_I)/(1 - V_J)$	Eficiência com que um elétron pode ser movido dos aceptores de elétrons do intersistema para os aceptores finais de elétrons do FSI
$\rho_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI
$\phi_{R0} = RE_0/ABS = \phi_{P0} - \psi_0 - \delta_{R0}$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o acceptor final de elétrons do FSI
<i>Índices de performance</i>	
$PI_{abs} = (RC/ABS) \times (\phi_{P0}/(1 - \phi_{P0})) \times (\psi_0/(1 - \psi_0))$	Índice de performance na base de absorção
$PI_{abs,total} = (RC/ABS) \times (\phi_{P0}/(1 - \phi_{P0})) \times (\psi_0/(1 - \psi_0)) \times (\delta_{R0}/(1 - \delta_{R0}))$	Índice de performance total medido da performance para o FSI e os aceptores de elétrons

3 RESULTADOS

3.1. Caracterização climática durante o período experimental

Os dados de temperatura e precipitação, no período do experimento (27 de agosto de 2009 a 24 de janeiro de 2010), encontram-se na Figura 1, onde é possível constatar que foram típicos para o fim da estação de inverno, toda a primavera e início do verão, para a região de clima subtemperado úmido. Contudo, percebe-se aumento na média da precipitação no mês de novembro, onde o acumulado das chuvas foi quatro vezes superior as normais climatológicas referentes a um período de 30 anos (EMBRAPA, 2010).

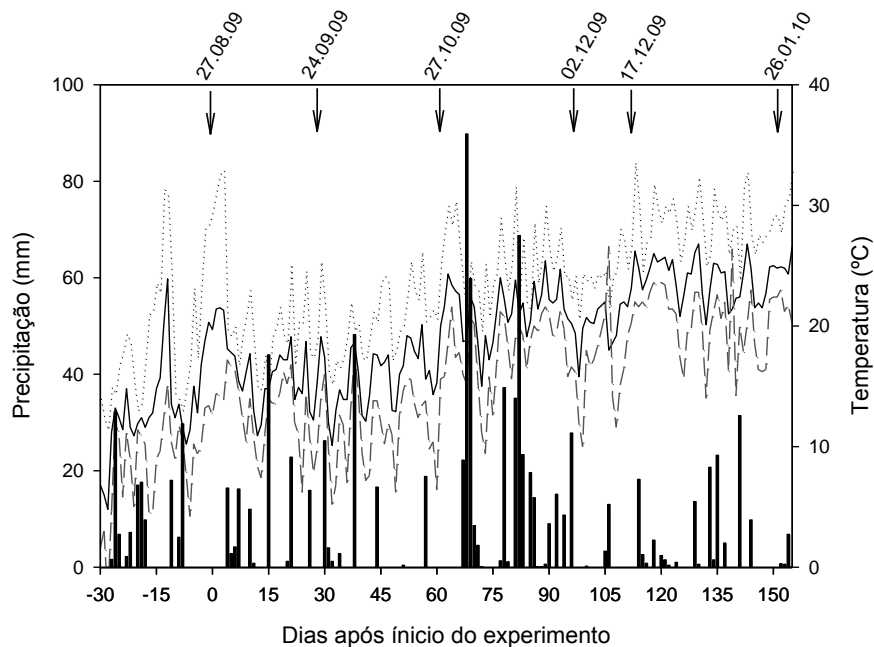


Figura 1: Precipitação total (mm) e temperatura média (——), mínima (— —) e máxima (.....) (°C) durante o período experimental (agosto/2009 a fevereiro/2010).

Fonte: Estação Agroclimatológica de Pelotas – Convênio EMBRAPA/UFPEL

O aumento da precipitação observado entre 61 e 112 dias após início do experimento, ocasionou atraso na quarta coleta, a qual foi realizada em condições de baixa radiação e insolação. A ocorrência de alta pluviosidade acarreta a diminuição da insolação diária, devido à nebulosidade característica de períodos chuvosos, nessas condições, a radiação que chega a copa das plantas é, em sua maioria, difusa (LARCHER, 2006).

A radiação solar difusa é a parte espalhada pelos constituintes atmosféricos dependente da altitude e latitude do local, do ângulo de elevação e declinação do sol, do índice de turbidez atmosférica, da quantidade de vapor d'água presente na

atmosfera e da nebulosidade. Porém, a nebulosidade associada ao tipo de nuvem, é o principal fator que afeta a chegada da radiação difusa até a superfície da terra (JONES, 1992).

As mudanças fenológicas das plantas que ocorrem na segunda metade do ano, como por exemplo, o período para o amadurecimento dos frutos são, sobretudo influenciadas pela condição do clima, que podem atrasar ou acelerar os processos de maturação e envelhecimento da cultura (LARCHER, 2006). No presente trabalho, a temperatura aparentemente não foi um fator estressante, tendo em vista que a temperatura média apresentou valores muito próximos as normais climatológicas referentes a um período de 30 anos (EMBRAPA, 2010). Contudo, em relação à temperatura mínima, esta esteve aproximadamente 1°C mais elevada no período do experimento, quando comparada às normais climatológicas, destacando o aumento de 3°C na temperatura média mínima para o mês de novembro.

3.3. Comprimento da folha e índice de clorofila

A variação do comprimento da folha durante o período experimental é apresentado na Figura 2A. A análise de variância não indicou efeito da interação tipo de porta-enxerto e cultivar copa, sendo verificado efeito apenas dos fatores principais (tipo de porta-enxerto e dias após o início do experimento).

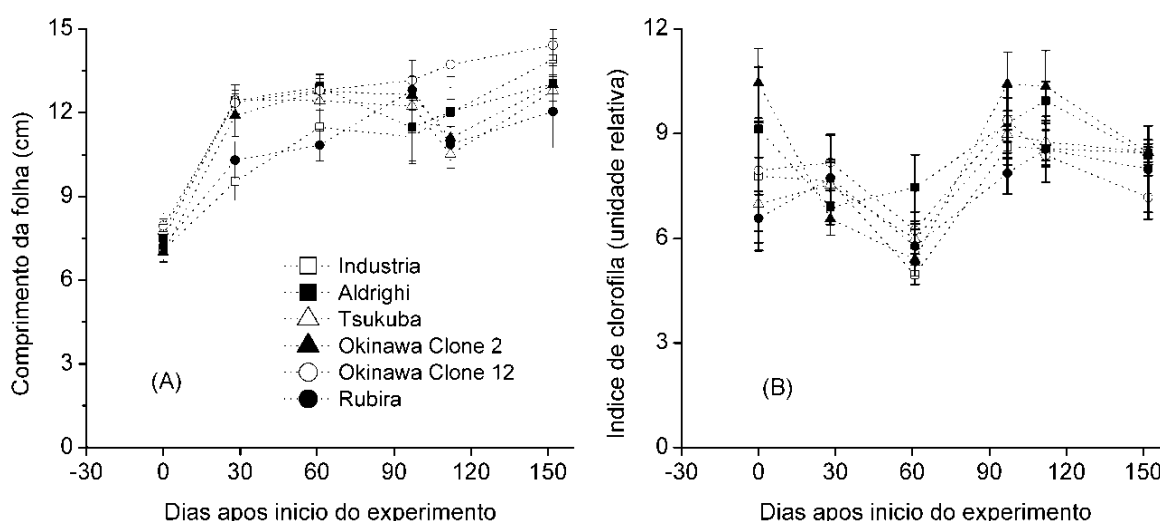


Figura 2: Comprimento da folha (A) e índice de clorofila (B) de plantas da cultivar de pessegueiro Maciel enxertadas em seis diferentes porta-enxertos.

Pode ser verificado que, no início do experimento (primeira coleta) as folhas apresentaram os menores valores, e a seguir os valores se estabilizaram, demonstrando um crescimento das folhas. Quanto ao efeito do porta-enxerto sobre o tamanho da folha da copa Maciel, destaca-se a combinação da cv. Maciel sobre o porta-enxerto Okinawa Clone 12 que resultaram em folhas maiores (12,4 cm) porém não diferindo significativamente das combinações com: Aldrigh (11,6 cm), Tsukuba (11,3 cm), Okinawa Clone 2 (11,4), enquanto as menores folhas foram observadas na combinação da copa Maciel com os porta-enxerto Rubirá (10,7 cm) e Industria (10,9 cm) (Figura 2A).

Os valores do índice de clorofila foram significativamente diferentes apenas para o fator dias após o início do experimento, sendo que os valores foram decrescentes até aproximadamente 60 dias após o início do experimento, com posterior incremento até 112 e decréscimo ao final do experimento. Não foi observado efeito da associação da copa Maciel com os diferentes porta-enxertos, com valores variando entre 7,4 e 8,6, respectivamente para as associação com Rubirá e Okinawa Clone 2 (Figura 2B).

3.2. Fluorescência das clorofilas: parâmetros do Teste-JIP

Os parâmetros do Teste-JIP, em função dos dias após o início do experimento, são apresentados nas Figuras 3 a 7. Em relação aos parâmetros de fluxo por centro de reação (RC) (Figura 3) deve ser destacado que o fluxo de absorção (ABS/RC), de captura (TR/RC), de transporte de elétrons (ET/RC) e de dissipação (DI/RC) foram influenciados apenas pelos dias após o início do experimento, apresentando comportamento similar entre as associações dos porta-enxertos e a cultivar copa Maciel. Valores mais elevados para tais parâmetros foram determinados no início do experimento, correspondendo ao período em que as folhas estavam menores, com decréscimo aos 28 dias e estabilização dos valores até aproximadamente 112 dias, e nova elevação ao final das coletas, porém com valores significativamente menores dos determinados no início do experimento. Contudo, não foi observado efeito da associação da copa Maciel com os porta-enxertos estudados, indicando que estas combinações não alteram a capacidade de absorção da energia luminosa, captura do éxciton pelo centro de reação e transporte de elétrons.

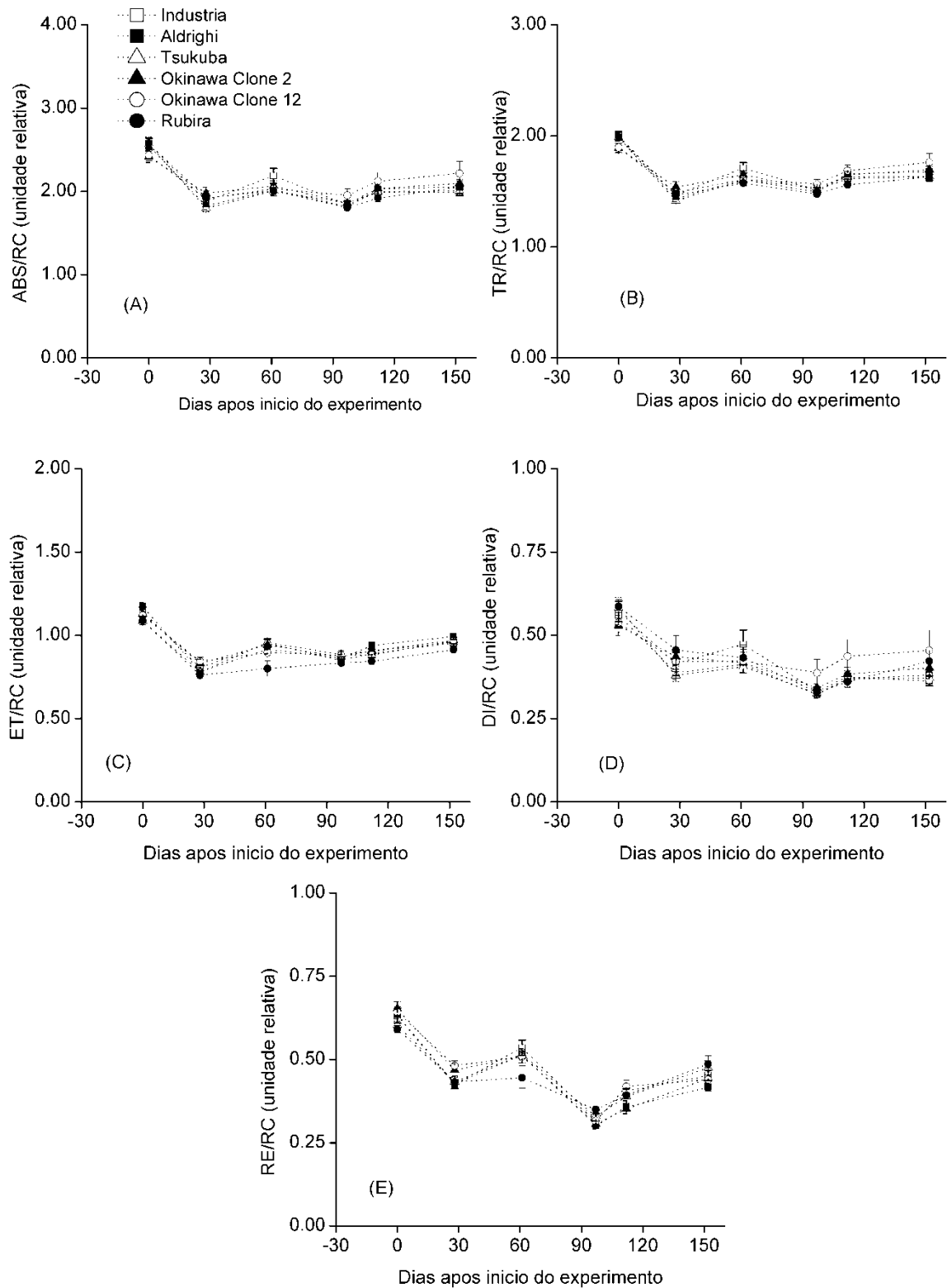


Figura 3 - Fluxos específicos de absorção, ABS/RC (A); de captura, TR/RC (B), de transporte de elétrons, ET/RC (C); de dissipação DI/RC (D) e de redução do aceptor final de elétrons do fotossistema I, RE/RC (E) de plantas da cultivar de pessegueiro Maciel enxertada em seis diferentes porta-enxertos.

O fluxo de redução do acceptor final de elétrons (RE/RC) (Figura 3E) apresentou os maiores valores no início do experimento, com queda aos 28 dias e elevação aos 61 dias, porém aos 97 dias do início do experimento, período correspondente a alta precipitação (Figura 1), foram observados os menores valores para este parâmetro, sendo que posteriormente houve elevação até o final do ensaio. Porém, a redução observada entre os dias 97 e 112, foi variável em função da associação porta-enxerto X copa Maciel. A utilização dos porta-enxertos Rubirá e Tsukuba induziram as menores reduções nos valores de RE/RC aos 97 dias em relação ao início do experimento. Isto pode sugerir que o excesso de água, afetou menos estas associações em termos de redução do acceptor final de elétrons do FSI.

Os parâmetros que expressam o rendimento quântico e as razões de fluxo estão apresentados na Figura 4. O rendimento quântico fotoquímico primário (Figura 4A) manteve valores muito próximos entre as associações porta-enxerto e cultivar copa, indicando que essas combinações não alteram o rendimento fotoquímico primário máximo. Contudo, houve variação apenas dependente do fator dias após início do experimento, com aumento observado aos 97 dias, caracterizado pela época de maior precipitação. Neste mesmo período foi verificado que os seis porta-enxertos associados a cultivar copa Maciel tiveram valores muito próximos no rendimento do transporte de elétrons Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons (Φ_{E_0} , Figura 4B). Destaca-se que a combinação Maciel com o porta-enxerto Rubirá, apesar de apresentar menores valores de Φ_{E_0} até os 61 dias, elevou o rendimento do transporte de elétrons no período de maior precipitação, acompanhando as demais associações da cultivar copa até os 152 dias.

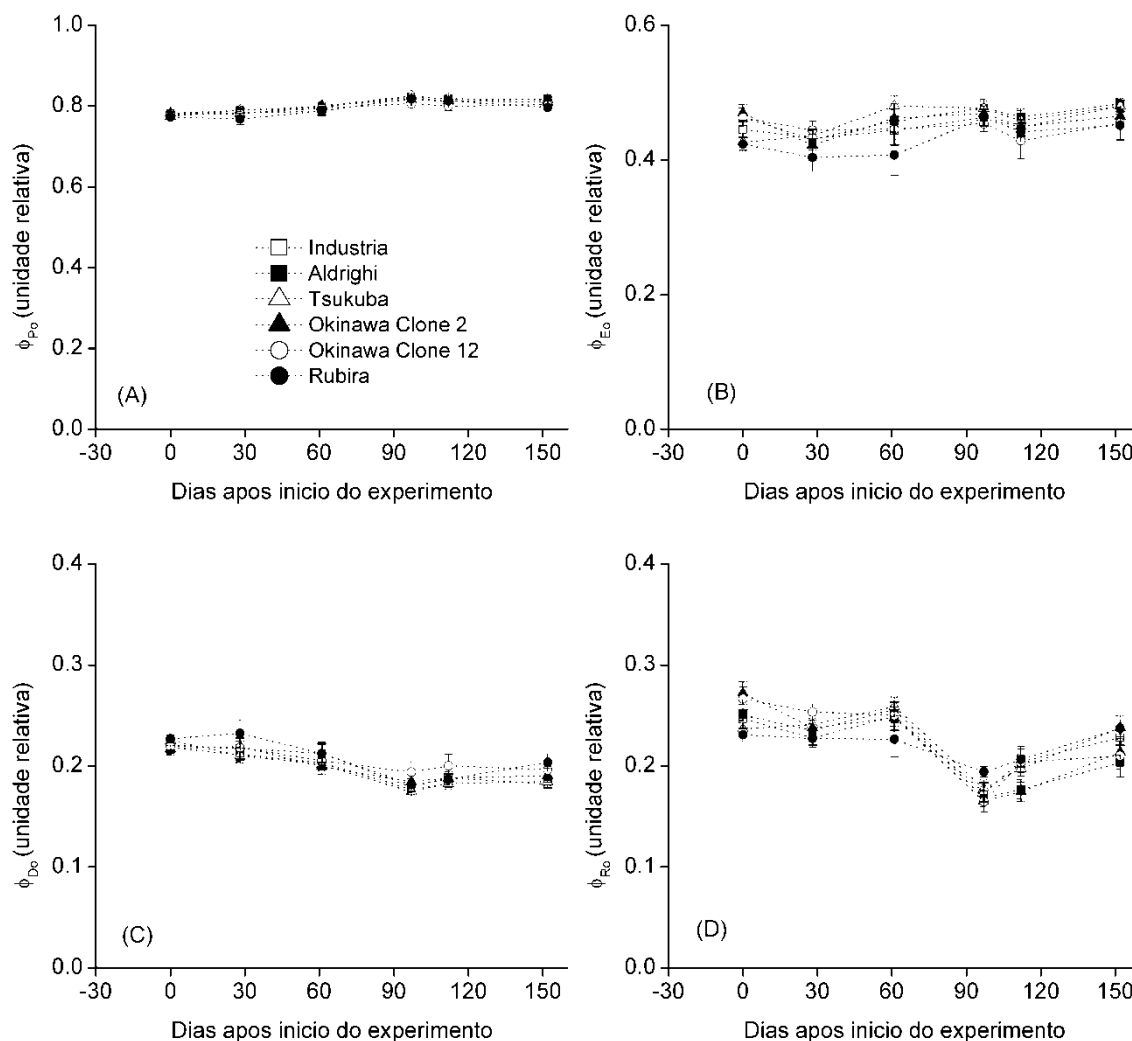


Figura 4: Parâmetros do Teste-JIP relacionados ao rendimento quântico, sendo: (A) rendimento quântico fotoquímico, Φ_{P_0} ; (B) Rendimento quântico do transporte de elétrons, Φ_{E_0} ; (C) Rendimento quântico de dissipação de energia, Φ_{D_0} e (D) Rendimento quântico de transporte de elétrons além de Q_A^- , Φ_{R_0} de plantas da cultivar de pessegueiro Maciel enxertada em seis diferentes porta-enxertos.

Em relação ao rendimento de dissipação de energia (Φ_{D_0}) (Figura 4C) houve queda em função do tempo até aos 97 dias da condução do experimento, período posterior ao maior volume hídrico. Contudo aos 152 dias ocorreu aumento nos valores, com destaque para a associação Maciel enxertada sobre Rubirá.

A eficiência com que um éxciton capturado no centro de reação, pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI (Φ_{R_0} , Figura 4D) chegou a valores menores aos 97 dias de experimento para os seis porta-enxertos analisados, sendo que para Aldrighi, Tsukuba, Okinawa Clone 2 e Okinawa Clone 12 essa resposta se repetiu para a quinta data de coleta dos dados. A associação Maciel x Rubirá, apesar dos valores

mais baixos de Φ_{R0} nos primeiros 61 dias de experimento, foi a que manteve os valores muito próximos a primeira coleta e, ao final dos 152 dias de experimento, alcançou o maior rendimento do transporte até os aceptores finais de elétrons do FSI.

A probabilidade da captura de um éxciton e as eficiências da movimentação dos elétrons até o FSI estão representadas na Figura 5. O início do experimento foi caracterizado pela maior probabilidade do éxciton capturado mover um elétron além de Q_A^- (Ψ_{E0}) (Figura 5A). Aos 61 dias os valores aumentaram, porém a cultivar copa Maciel, quando enxertada sobre Rubirá, manteve valores mais baixos em relação aos demais porta-enxertos, porém sem diferença significativa.

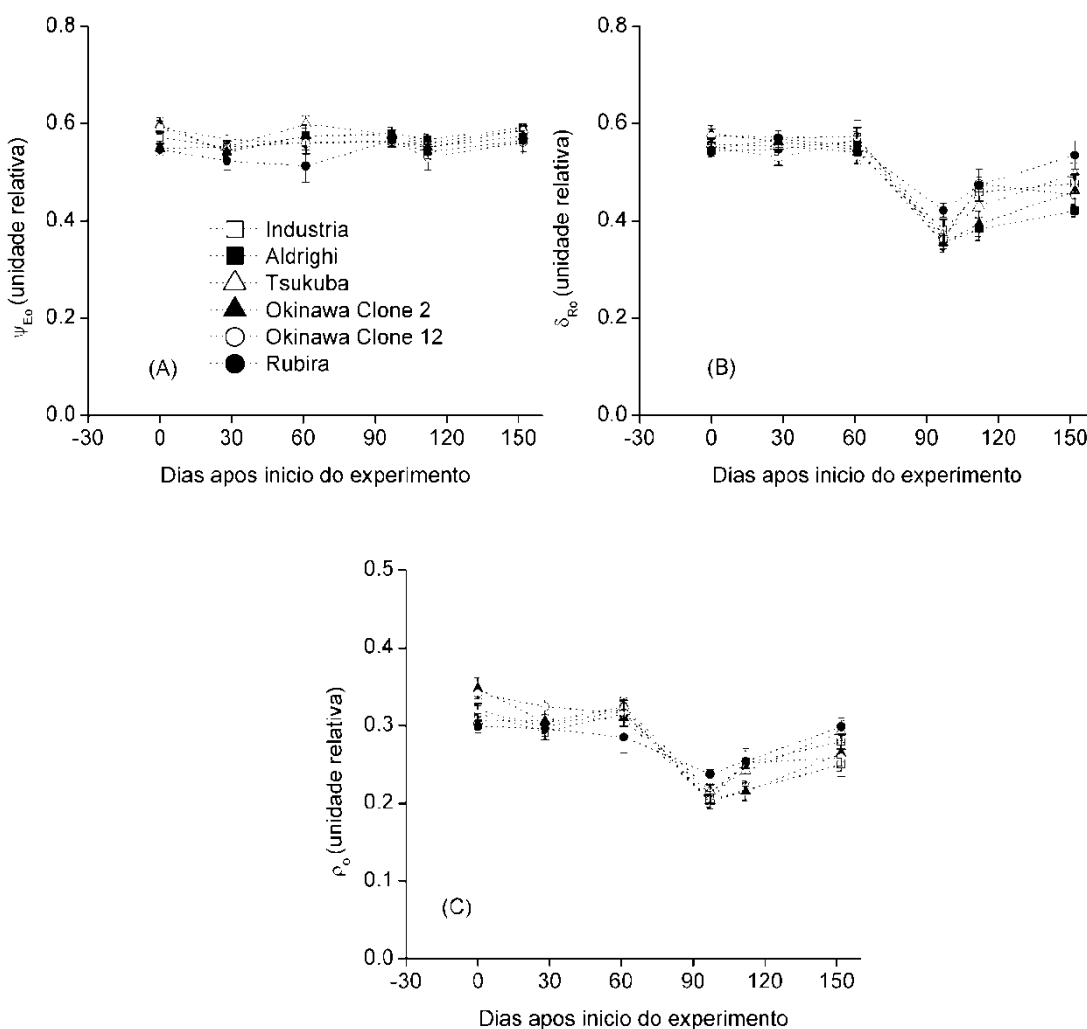


Figura 5: Parâmetros do Teste-JIP relacionados a (A) probabilidade que um éxciton capturado mova elétrons além de Q_A^- , Ψ_{E0} , (B) eficiência com que um elétron pode ser movido do intersistema de aceptores de elétrons reduzidos para o acceptor final de elétrons do FSI, δ_{R0} ; (C) eficiência com que um éxciton capturado no centro de reação pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI, ρ_0 de plantas da cultivar de pessegueiro Maciel enxertada em seis diferentes porta-enxertos.

Após 97 dias de experimento, a eficiência com que um elétron pode ser movido do intersistema de aceptores de elétrons reduzidos para o acceptor final de elétrons do FSI (δ_{R0}) (Figura 5B), apresentou valores menores em comparação aos determinados aos 61 dias, coincidindo com o período de alta precipitação, contudo após este período os valores foram crescentes. Comportamento similar foi encontrado para a eficiência com que um éxciton capturado no centro de reação pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI (p_0) (Figura 5C) que teve seus valores drasticamente reduzidos aos 97 dias, com leve aumento até o final do experimento. Deve ser destacado que a associação Maciel x Rubirá foi a que apresentou menor queda nesse período, sendo estatisticamente maior que os demais porta-enxertos associados à mesma cultivar copa.

O parâmetro PI_{ABS} (Figura 6A), que inclui os potenciais parciais de conservação de energia, apresentou valores crescente até os 97 dias, com posterior queda aos 112 dias e manutenção desses aos 152 dias, exceto para a associação da cv. Maciel com os porta-enxertos Industria e Rubirá, que apresentaram aumento no valor desse parâmetro na última coleta.

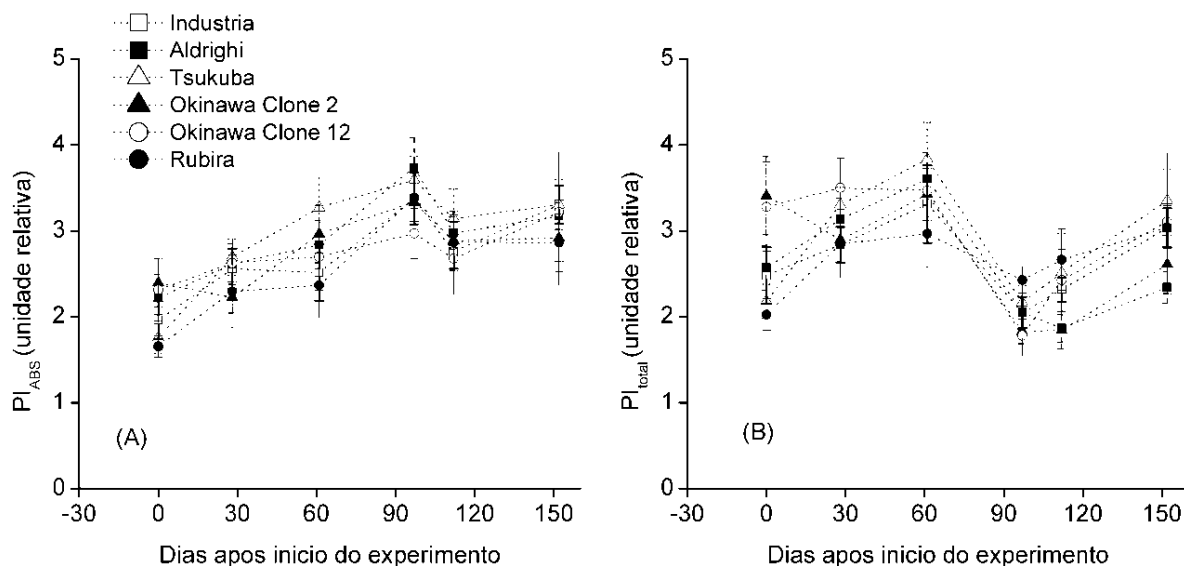


Figura 6: Índices de performance (A) Índice de performance na base de absorção, PI_{ABS} e (B) Índice de performance total, PI_{TOTAL} de plantas da cultivar de pessegueiro Maciel enxertada em seis diferentes porta-enxertos.

Em relação ao PI_{TOTAL} (Figura 6B), que adiciona em seus componentes o parâmetro que indica a redução dos aceptores finais do FSI, a queda dos valores é antecipada para os 97 dias de experimento, intervalo em que foi registrado maior precipitação. Esse comportamento foi independente dos porta-enxertos, exceto para as plantas enxertadas sobre Rubirá, que mantiveram valores de PI_{TOTAL} maiores que a primeira coleta durante toda a condução do estudo. A partir dos 97 dias, as plantas de Maciel enxertadas sobre Industria, Aldrighi, Okinawa Clone 2 e Okinawa Clone 12, mantiveram valor de PI_{TOTAL} baixos, porém quando enxertadas sobre *seedlings* da Industria, na ultima coleta recuperou os valores, sendo maiores que aqueles encontrados na primeira coleta.

4 DISCUSSÃO

Durante o período experimental, as condições ambientais com maior interferência na cinética de emissão de fluorescência da clorofila foram àquelas relacionadas ao aumento da precipitação ocorrida entre 61 e 112 dias após o início do experimento (Figura 1). Condições de alagamento provocam redução do O_2 no solo (PEZESKI, 2001). A redução do oxigênio, acceptor final de elétrons na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, interfere na regulação da fração ATP:ADP onde a diminuição desta razão, indica a deterioração da vitalidade da planta (LARCHER,2006).

Ao longo da ontogenia das folhas as lamelas granais dos cloroplastos se organizam e acumulam clorofilas, além de proteínas necessárias para fotofosforilação e fixação de carbono (MAAYAN et al., 2008). Contudo, folhas jovens não apresentam aparato fotossintético desenvolvido, entretanto possuem mecanismos eficientes para absorver energia através dos complexos de captação de luz (JIANG et al., 2006). Ainda, Jiang et al (2006) demonstraram que folhas jovens tem mecanismos de fotoproteção tais como fotorrespiração e ciclo de xantofilas.

Sinais de desenvolvimento e do meio ambiente são muitas vezes seguidos por alterações no aparato fotossintético (MAAYAN et al., 2008). A utilização do Teste-JIP permite o entendimento dos processos, associados ao fluxo energético na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese, expressando uma cascata de

energia. Esta cascata inicia com a absorção da luz pelos pigmentos antena do FSII e termina com a redução dos aceptores finais de elétrons do FSI (YUSUF et al., 2010). As associações da cultivar Maciel com os porta-enxertos relacionados não acarretou modificações biofísicas importantes no aparato fotossintético durante o período experimental avaliado.

Nesse contexto, o fluxo de energia capturado por centro de reação (TR/RC) acompanhou a absorção pelos centros de reação (ABS/RC), não sendo afetados pelas condições ambientais registradas ao longo do experimento, nem mesmo pelas associações da cultivar Maciel com os distintos porta-enxertos. Os mesmos parâmetros parecem não ser influenciados por condições de alagamento quando tomates Micro-Tom são submetidos a estresse por alagamento por um período de sete dias (HUTHER, 2011).

Quanto ao fluxo de energia intermediário, representado pelo fluxo de transporte de elétrons além de Q_A^- (ET/RC), observa-se os menores valores para a associação Maciel x Rubirá, diferindo do comportamento dos demais porta-enxertos estudados. Logo, houve menor dissipação de energia e redução dos aceptores finais de elétrons. Entretanto, a redução dos aceptores finais de elétrons foi o parâmetro que teve maior queda dos valores aos 97 dias, talvez devido à inativação de uma fração dos RCs do FSII resultando num aumento do tamanho médio da antena por centro de reação ativo (YUSUF et al., 2010). A queda nos valores de ET/RC é descrita para plantas Hyola 432, observado logo no primeiro dia de alagamento (PERBONI et al., 2012 *in press*). Nesses casos, a regulação dos complexos coletores de luz é necessário para equilibrar a absorção e utilização de energia luminosa, minimizando potenciais danos foto-oxidativos (FORCE; CRITCHLEY; VAN RENSEN, 2003; ORT; ZHU; MELIS, 2011).

O rendimento quântico da fotossíntese é o resultado da razão de todo o trabalho fotoquímico e a absorção dos quanta de luz (LARCHER, 2006). O valor deste parâmetro pode ser alterado por fatores fotoquímicos e não-fotoquímicos (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004). No presente trabalho, Φ_{P_0} manteve valores em torno de 0,8. O comportamento fotoquímico do metabolismo fotossintético é semelhante para as combinações, não interferindo no rendimento fotoquímico da fotossíntese. Em condições ideais de temperatura e disponibilidade hídrica, os valores de Φ_{P_0} também se mantiveram próximo a 0,8, quando respostas

da fluorescência da clorofila *a* à temperatura e disponibilidade de água, foram estudadas em espécies arbustivas do Mediterrâneo (OGAYA et al., 2011).

A medida da performance total do aparato fotossintético, produto do índice de performance e a probabilidade com que um éxciton pode mover um elétron para os aceptores finais de elétrons do FSI (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER 2008), foi influenciado por queda considerável das reações de oxi-redução (δRo), principalmente aos 97 dias. Da mesma forma, o efeito do alagamento em plantas de tomate Micro-Tom foi mais visível no parâmetro PI_{TOTAL} (HUTHER, 2001), fato que pode ser explicado devido a “tensão” negativa que ocorre sobre o sistema (YUSUF et al., 2010).

O porta-enxerto Okinawa Clone 12 associado com cv. Maciel, apesar da queda dos valores do índice aos 112 dias, apresentou considerável recuperação, alcançando valores próximos aos encontrados no início da brotação, ou seja, na primeira coleta. Na primeira avaliação, a associação com o porta-enxerto Rubirá, apesar de ter apresentado menor valor de PI_{TOTAL} , manteve valores constantes durante as demais coletas, demonstrando que em condições ambientais adversas, como precipitação elevada, apresenta mecanismos que mantém a performance das reações fotoquímicas.

Para estresses em condições naturais, tais como luz, temperatura elevada ao meio-dia, ou até mesmo eventos de precipitação maior ou menor que a média em um dado período, as plantas usam a inativação reversível dos centros de reação como estratégia de otimização, para garantir chance de sobreviver (YAMANE et al., 1997). De acordo com o Teste-JIP, em muitas situações de estresse as plantas inativam uma fração de seus centros de reação.

As aplicações do Teste-JIP, como determinação do comportamento fotossintético, em pomares de plantas adultas de pessegueiro enxertadas e mantidas em condições não controladas de ambiente, durante um ciclo fenológico, foi ferramenta valiosa na quantificação dos estresses, principalmente aqueles causados pelo excesso de chuva, considerando o acompanhamento dos dados climatológicos.

5. CONCLUSÕES

- Parâmetros de fluorescência da clorofila relacionados aos fluxos por centro de reação e ao rendimento quântico de transporte de elétrons além de Q_A^- (Φ_{R_0}) são mais elevados quando as folhas são menores, indicando maior eficiência;

- De forma geral a associação da copa cv. Maciel com os porta-enxertos estudados não afetaram a absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo sistema fotossintético.

- Parâmetros do Teste-JIP relacionados ao fotossistema I são os mais afetados por eventos de alta precipitação e

- A cv. Maciel enxertada sobre *seedlings* de Rubirá é a associação com menores danos e/ou maiores eventos de recuperação causados no sistema fotossintético.

6. REFERENCIAS

BAZZAZ, F.A. The physiological ecology of plant succession. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 10, p.351-71, 1979

CASCIO, C; BUSSOTTI, F; STRASSER, R.J; MARZUOLI, R. Variability of Photosynthetic Performances in Tree Seedlings Under Ozone and Water Stress in J.E Allen, E. Gantt, I.H. Golbeck, and B. Osmond (eds.), **Photosynthesis**. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis, p. 1417-1420, 2008

CASSOL, D., SILVA F.S.P., FALQUETO, A.R., BACARIN, M.A. An evaluation of non-destructive methods to estimate total chlorophyll content. **Photosynthetica**, v. 46, p. 634-636, 2008

ESMENJAUD, D; VOISIN, V; VAN GHELDER, C; BOSSELUT, N; LAFARGUE, B; DI VITO, M; DIRLEWANGER, E; POËSSEL, J.L; KLEINHENTZ, M. Genetic dissection of resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in plum, peach, almond, and apricot from various segregating interspecific *Prunus* progenies **Tree Genetics & Genomes**, v. 5, p.279–289, 2009.

EMBRAPA, Boletins agroclimatológicos, disponível em <http://www.cpact.embrapa.br/agromet/estacao/estacao.html>, acesso em fevereiro de 2010

EULLAFFROY, P; FRANKART, C; AZIZ, A; COUDERCHET, M; BLAISE, B. Energy fluxes and driving forces for photosynthesis in *Lemna minor* exposed to herbicides. **Aquatic Botany**, v. 90, p. 172–178, 2009.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: Editora e Gráfica UFPEL, 178p. 1995.

FORCE, L.; CRITCHLEY, C.; VAN RENSEN, J. J. S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, v. 78, p. 17-33, 2003.

GOTO, R.; SANTOS, .H.S.; CAÑIZARES, A.L. **Enxertia em hortaliças**. São Paulo: Editora UNESP, 75p. 2003.

HERTER, F. G. Zoneamento agroclimático do pessegueiro e da nectarina para o Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, **Documentos nº 91**, 27p. 2002.

HUTHER, C.M. **Estresses abióticos em plantas transformadas e não transformadas de tomate ‘Micro-Tom’ com diferentes expressões da sHSP22 mitocondrial: efeito do alagamento e de ciclos de alta e baixa temperatura**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, 92p. 2011.

JIANG, C; GAO, H; ZOU, Q; JIANG G; LI, L. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. **Environmental and Experimental Botany**, v. 55, p. 87–96, 2006.

JONES , H.G. **Plants and microclimate**. Cambridge University Press, Cambridge, 428p. 1992.

LARBI, A., ANUNCIACION, A., ABADIA, J., MORALES, F., Down co-regulation of light absorption, photochemistry, and carboxylation in Fe-deficient plants growing in different environments. **Photosynthesis Research**, v. 89, p. 113–126, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Editora RiMa, São Carlos. 531p. 2006.

MAAYANA, I; SHAYA, F; RATNER, K; MANI, Y; LAVEE, S; AVIDANA, B; SHAHAKA, Y; OSTERSETZER-BIRANA, O. Photosynthetic activity during olive (*Olea europaea*) leaf development correlates with plastid biogenesis and Rubisco levels. **Physiologia Plantarum**, v. 134, p.547–558, 2008.

OGAYA, R; PENUELAS, J; ASENSIO, D; LLUSIÀ, J. Chlorophyll fluorescence response to temperature and water availability in two co-dominant Mediterranean shrub and tree species in a long-term field experiment simulating climate change **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p.123–127, 2011.

ORT, D.R; ZHU, X; MELIS, A. Optimizing Antenna Size to Maximize Photosynthetic Efficiency. **Plant Physiology**, v. 155, p. 79–85, 2011.

PERBONI, A.T. ; CASSOL, D; SILVA, F.S.P. ; SILVA, D. M. ; BACARIN, M. A. . Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of flooding in canola hybrids. **Biologia** (Bratislava), in press 2012.

PEZESHKI, S.R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, p. 299–312, 2001.

RODRIGUES, A. C; FACHINELLO, J. C; SILVA, J. B; FORTES, G. R. de L; STRELOW, E Compatibilidade entre diferentes combinações de cvs. Copas e porta-enxertos de *Prunus* sp.. **Revista Brasileira de Agrociencia**, v. 10, p. 185-189, 2004.

SCHANSKER, G., SRIVASTAVA, A., GOVINDJEE AND STRASSER, R Characterization of the 820-run transmission signal paralleling the chlorophyll a fluorescence rise (OJJP) in pea leaves. **Funct. Plant Biol**, v. 30, p. 785-796, 2003.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 104, p.236-257, 2011.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed.), **Photosynthesis: from light to biosphere**, Kluwer Academic Publisher: Dordrecht, The Netherlands, p. 977-980, 1995.

STRASSER, R. J., The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Photosynthesis II, Structure and Molecular Organization of the Photosynthetic Apparatus (Akoyunoglou G, ed.). **Philadelphia: Balaban International Science Services**, p.727-737, 1981.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**. M. Yunus. U. Pathre, P. Mohanty (eds.), Taylor & Francis. London. GB. p. 445-483, London, 2000.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Chlorophyll a Fluorescence: **A Signature of Photosynthesis**, Analysis of the chlorophyll a Fluorescence Transient. Chapter 12, Spring. Printed in The Netherlands, v. 14, p. 321-362, 2004.

TAO, F.; YOKOZAWA, M.; XU, Y.; HAYASHI, Y.;ZHANG, Z. Climate changes and trends in phenology and yields of field crops in China, 1981–2000 **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 138, p. 82–92, 2006.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of plants vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. In: VARMA, A. (Ed.), **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**, 3rd edition Springer, Dordrecht, p. 679-703, 2008.

WANG, H., WANG, F., WANG, G., MAJOURHAT, K., The responses of photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of nectarine (*Prunus persica* var. *Nectarina Maxim*) to greenhouse and field grown conditions **Scientia Horticulturae**, v. 112, p. 66–72, 2007.

YAMANE, Y; KASHINO, Y; KOIKE, H; SATOH, K. Increases in the fluorescence F_0 level and reversible inhibition of Photosystem II **reaction center by high-temperature treatments in higher plants. Photosynthesis Research**, v. 52, p. 57–64, 1997.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE, SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p.1428–1438, 2010.

CAPÍTULO II

ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS DE AMEIXEIRA SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO E AO ALAGAMENTO*

Photosynthetic activity in Japanese plum and submitted to water deficit and flooding

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto do déficit hídrico e alagamento sobre a atividade fotossintética de ameixeiras cultivar América. Foram analisadas a fluorescência da clorofila *a* e as trocas gasosas em plantas de aproximadamente 12 meses, cultivadas em condições de casa de vegetação. As análises foram iniciadas após dois dias do início do déficit hídrico e um dia após o início do alagamento, totalizando quatro avaliações durante a manutenção dos estresses. A fotossíntese líquida foi reduzida pela limitação estomática em ambos estresses. A condição de restrição hídrica não alterou o rendimento quântico máximo fotoquímico. Os índices de performance fotossintético revelaram diferenças entre os estresses, caracterizando as plantas de ameixeira, cv. América, como mais suscetíveis ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Prunus salicina*, Fluorescência da Clorofila *a*, Teste-JIP, Trocas Gasosas

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the impact of drought and flooding on the photosynthetic activity of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindh), cultivar America. We analyzed the chlorophyll fluorescence and leaf gas exchange in plants, with approximately 12 months, grown in greenhouse conditions. subjected to water deficit. Analyses were initiated two days after the onset of drought and and a day after the flooding, resulting in four evaluations during the maintenance of stress. Net photosynthesis was reduced by stomatal limitation in both the stresses. The condition of water restriction did not alter the maximum quantum yield. The photosynthetic performance indexes showed differences between the stresses, featuring the plants of plum cv. America as the most susceptible to drought.

Keywords: *Prunus salicina*, Chlorophyll *a* Fluorescence, JIP Test, Gas Exchange

* Artigo submetido à *Revista Ciência Rural*

1 INTRODUÇÃO

O estresse hídrico, considerado importante fator ambiental que compromete a fotossíntese, é um dos principais impedimentos do crescimento e produtividade das plantas. Estas respondem a esse estresse por meio de mecanismos adaptativos, permitindo que os sistemas fotoquímicos e bioquímicos, relacionados à fotossíntese, suportem situações adversas (Oukarroum et al., 2007).

A capacidade fotossintética é progressivamente reduzida em condições de estresse hídrico, como consequência, menores intensidades luminosas são aproveitadas no processo fotossintético. Sob essas condições, as plantas não podem utilizar toda energia luminosa para a produção de ATP e NADPH₂, aumentando desta forma, a suscetibilidade a fotoinibição (Oukarroum et al., 2007). Vários estresses abióticos afetam, direta ou indiretamente, a capacidade fotossintética das folhas e, conseqüentemente, alteram a cinética da fluorescência da clorofila a (Oukarroum et al., 2007).

O déficit hídrico tem profundo impacto sobre os sistemas ecológicos e agrícolas, tendo em vista que as reações da planta a esse estresse diferem em vários níveis de organização, dependendo da intensidade e da duração do estresse, bem como da espécie ou estágio de desenvolvimento (Shao et al., 2008). O alagamento do solo confere restrições ao cultivo de muitas espécies pela falta de adaptação às condições que solos hidromórficos apresentam, levando à baixa disponibilidade de oxigênio ao sistema radicular (Drew, 1997). O excesso de água no sistema das raízes, em plantas terrestres, pode ser prejudicial ou mesmo letal, pois bloqueia a transferência de oxigênio e outros gases entre o solo e a atmosfera (Drew, 1997) devido à lenta difusão desse gás na água.

O gênero *Prunus* inclui espécies produtoras de frutos, como a exemplo do pessegueiro, amêndoeira, ameixeira, damasqueiro e cerejeira, entretanto várias são utilizadas como porta-enxertos e ornamentais. As ameixas são representadas por espécies com diferentes graus de ploidia, apresentando a maior diversidade taxonômica dentro das fruteiras de caroço e estão adaptadas a ampla gama de fatores climáticos e edáficos (Esmenjaud et al., 2009), existindo assim diferenças marcantes de resposta entre as espécies a condições de estresse. O sucesso do cultivo de espécies frutíferas de caroço na região sul do Brasil, depende de alguns

requisitos importantes entre os quais, a utilização de mudas com qualidade garantida, materiais bem adaptados a região e de manejo adequado para obtenção de elevada produtividade do pomar. Na grande maioria dos anos, tem-se problemas devido ao estresse hídrico, em períodos críticos para a cultura, como é o caso da fase de florescimento (excesso de chuvas) e da fase que antecede a maturação dos frutos (déficit hídrico) afetando a qualidade e a produtividade dos pomares.

A fluorescência da clorofila *a* é método amplamente utilizado para estudar as respostas das plantas aos estresses ambientais (Strasser et al., 2000; Oukarroum et al., 2007). É método não-invasivo, confiável, rápido e facilmente mensurável. Permite a obtenção de informações básicas sobre o estado do aparato fotossintético (Christen et al., 2007; Oukarroum et al., 2007; Thoren et al., 2010), considerando aspectos funcionais e estruturais, principalmente do fotossistema II (FSII). Ainda é método sensível para a detecção e quantificação das alterações induzidas no aparelho fotossintético (Oukarroum et al., 2007). Por intermédio de medidas de fluorescência tem sido possível caracterizar, quantificar e detectar o estresse de plantas, antes que os sintomas se tornem visíveis nas folhas, especialmente sintomas relacionados ao estresse hídrico (Christen et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do estresse provocado pelo déficit hídrico e alagamento do solo sobre a atividade fotossintética de plantas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindh.) cultivar América cultivadas em casa de vegetação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindh.), cultivar América, obtidas de reprodução assexuada por cultivo *in vitro*, disponibilizadas pelo Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, da Universidade Federal de Pelotas, foram cultivadas em vasos de polietileno, com capacidade para 10 litros, contendo substrato Plantmax[®], sendo periodicamente irrigadas. Quinzenalmente adicionou-se as plantas solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950). As mudas foram mantidas em casa de vegetação modelo Double Poly Pad Fan. Quando as plantas apresentavam 12 meses foi iniciado o experimento, que consistiu na indução do estresse hídrico provocado pela retirada da irrigação por um período de 11 dias (estresse por déficit hídrico), manutenção de lamina d'água (aproximadamente 25 mm acima do nível do

substrato) por um período de 10 dias (estresse por alagamento) e um grupo de plantas controle, irrigado diariamente. Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas foram avaliados, sendo repetidos em intervalos de três dias, a partir do segundo dia após a retirada de água para o tratamento de déficit hídrico e no primeiro dia após o alagamento das plantas, para o tratamento de alagamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada planta uma parcela experimental.

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas em folhas intactas, ligadas a planta e adaptadas ao escuro por 30 minutos. Foram utilizadas quatro folhas em cada planta, totalizando 12 medidas por tratamento. A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida com o uso de um fluorômetro portátil (Handy-PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, PE 30 4NE, UK). A fluorescência transiente foi induzida pela luz vermelha (pico em 650nm) de aproximadamente $3.000 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A intensidade da fluorescência medida a $50\mu\text{s}$ foi considerada como fluorescência inicial.

A partir das intensidades de fluorescência da clorofila *a*, foram calculados os parâmetros propostos pelo Teste-JIP (Strasser & Strasser, 1995, Tsimilli-Michael & Strasser, 2008), com a utilização do software 'BioLyzer' (Laboratory of Bioenergetics, University of Geneva, Switzerland).

As trocas gasosas, sempre realizadas entre 9:00 e 11:00h, foram medidas em folhas maduras, completamente expandidas, localizadas no terço médio de cada ramo utilizando um analisador portátil a infra-vermelho de CO_2 (modelo LI-6400XT, LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). As leituras foram realizadas em três folhas por planta, totalizando nove folhas por tratamento, em cada coleta. A concentração de CO_2 na câmara, foi ajustada para 380 mol mol^{-1} , a densidade de fluxo de fótons de $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, e a temperatura dentro da câmara manteve-se sempre em torno de $28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

Os parâmetros de trocas gasosas foram avaliados por meio da magnitude das médias e dos desvios padrão da média, utilizando-se três repetições e três leituras por plantas totalizando nove determinações por tratamento. Foi realizada a análise de correlação de Pearson entre os valores de taxa de assimilação líquida e os índice de performance, utilizando-se para tanto o conjunto total de mensurações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alguns parâmetros do Teste-JIP em função do período dos estresses, são apresentados na figura 1. Dentre os parâmetros que descrevem fluxos específicos por centro de reação (RC) verificou-se que o fluxo de absorção (ABS/RC), fluxo de energia capturado (TR_o/RC) e o fluxo de dissipação de energia (DI_o/RC) aumentaram, principalmente, aos 11 dias de déficit hídrico (Figura 1A), enquanto que para as plantas sob alagamento (Figura 1B), esse aumento ocorreu aos 10 dias, sendo que neste estresse foi detectado simultaneamente incremento do fluxo de transporte de elétrons (ET_o/RC). O fluxo DI_o/RC refere-se à perda de parte da energia absorvida pelo FSII, por meio de calor, emissão de fluorescência ou ainda, transferência de energia para outros sistemas (Strasser et al., 2000). Tal relação pode ser decorrente da limitação da disponibilidade de CO_2 para as reações bioquímicas da fotossíntese, as quais consomem o ATP e $NADPH_2$. Desta forma, uma limitação na abertura estomática, restringe a utilização dos adenilatos e do poder redutor, ocasionando regulação na cadeia de transporte de elétrons de maneira a reduzir a produção destes compostos ou, são acionados mecanismos de regulação da absorção da energia pelos fotossistemas ou do fluxo de elétrons na cadeia de transporte de elétrons.

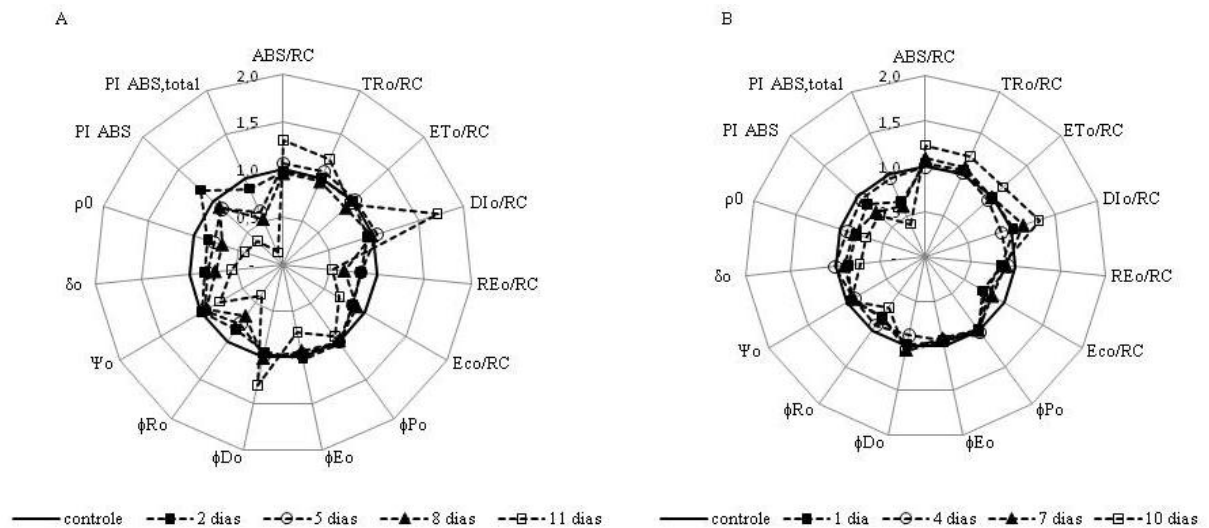


Figura 1. Parâmetros da fluorescência da clorofila a calculados através do Teste-JIP em plantas de ameixeira 'América' submetidas ao déficit hídrico (A) e alagamento (B). Para cada parâmetro os valores foram normalizados, utilizando como referência o respectivo controle.

Os mecanismos de controle associado ao aumento de ABS/RC (estimativa do tamanho aparente do sistema coletor de luz do FSII por centro de reação decorrente), medido em ambos os estresse, foram provavelmente: i. a alteração no tamanho funcional do sistema antena do FSII; ii. alterações no número destes complexos, ou iii. inativação dos RC (centro de reação não redutor de Q_A) (Eullaffroy et al., 2009). A inativação dos RCs pode indicar uma suscetibilidade à fotoinibição, tendo em vista que o estresse diminuiu a taxa de fotossíntese, causado por um aumento na proporção de RCs inativos (Ronde et al., 2004).

O aumento em TR_0/RC indica elevação do fluxo de energia capturado pelo RC, para as plantas submetidas a ambos os estresses, porém, sob condições de restrição hídrica, ocorre aumento maior da energia dissipada por RC (DI_0/RC). Nas plantas sob alagamento, os fluxos por centro de reação acompanharam a cascata de energia, porém a queda no fluxo de redução de Q_A pode ser explicada pela diminuição de transportadores de elétrons (EC_0/RC), observada desde o primeiro dia de alagamento. Esta mudança pode estar associada também a alteração do número de complexos coletores de luz (LHC) por RC do FSII.

Dentre os parâmetros que descrevem o rendimento do fluxo energético, destaca-se o rendimento quântico fotoquímico máximo (ϕ_{P0}), que não foi influenciado pelo tempo de estresse. O rendimento quântico máximo fotoquímico primário ($\phi_{P0} = F_V/F_M$), não é um indicador efetivo para situações de estresse provocadas pela restrição hídrica e pelo alagamento, tendo em vista que o mesmo permaneceu praticamente constante em relação ao controle, ao longo do período de estresse. Tal situação é descrita para variedades de *Hordeum vulgare* L. submetidas a condições de seca e posterior recuperação (Oukarrouma et al., 2007), ocorrendo uma ligeira diminuição do rendimento quântico máximo durante a seca. Da mesma forma, a não variação da razão F_V/F_M , durante o estresse aplicado, mostra que o rendimento quântico máximo fotoquímico permaneceu alto durante as condições de seca, sendo indicativo que a cadeia de transporte de elétrons é resistente a desidratação (Nar et al., 2009). Os resultados do presente trabalho reforçam as observações que F_V/F_M (ϕ_{P0}) não é um indicador efetivo de estresse.

Contudo, aos 11 dias após o início do estresse por restrição hídrica, houve uma diminuição no rendimento quântico de transporte de elétrons (ϕ_{E0}), com correspondente aumento no rendimento quântico para dissipação de energia (ϕ_{D0})

(Figura 1A), situação não identificada para as plantas submetidas ao alagamento (Figura 1B).

Nas plantas submetidas aos dois estresses hídricos houve redução acentuada e progressiva para o rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o acceptor de elétrons do fotossistema I (ϕ_{R0}), porém o decréscimo foi muito mais intenso nas condições de déficit hídrico (Figura 1A). Os mesmos resultados foram observados para os parâmetros que descrevem a eficiência do fluxo energético envolvidos com a atividade do fotossistema I (δ_0 - eficiência com que um elétron se move do intersistema de aceptores de elétrons reduzido para os aceptores finais do fotossistema I e ρ_0 - eficiência com um éxciton capturado no centro de reação pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais do fotossistema I). Porém, as maiores reduções foram determinadas nas plantas submetidas ao déficit hídrico (Figura 1A), sendo o decréscimo crescente com o transcorrer de ambos os estresses.

O índice de performance (PI_{ABS}), nas plantas mantidas sob déficit hídrico (Figura 1A), teve queda acentuada no 11º dia após o início do estresse. Enquanto, aquelas sob alagamento, tal parâmetro manteve valores similares aos sete e 10 dias de estresse, porém a redução em PI_{ABS} , identificada para as plantas submetidas ao déficit hídrico, foi mais acentuada a das plantas alagadas. O índice de performance total ($PI_{ABS,total}$), que descreve a operação em série dos dois fotossistemas, por meio do comportamento dos parâmetros estruturais do FSII até os aceptores finais de elétrons do FS I, diminuiu, em relação ao controle, com o transcorrer do estresse por déficit hídrico (Figura 1A), atingindo os menores valores ao final do ensaio. Entretanto, nas plantas submetidas ao alagamento, houve diminuição no primeiro dia de estresse, seguido com o retorno para os valores do controle no quarto dia, com subsequente redução até o 10º dia (Figura 1B). Tais resultados demonstram um efeito marcante dos estresses sobre a atividade do fotossistema I, sendo mais intensificada sob déficit hídrico.

Os índices de performance PI_{ABS} e $PI_{ABS,total}$ são parâmetros resultantes do produto de termos que expressam potenciais parciais para a conservação de energia a partir de um éxciton para a redução no intersistema de receptores de elétrons e para a redução dos aceptores finais de elétrons do FSI, respectivamente (Tsimilli-Michael & Strasser, 2008). Tais parâmetros são considerados os mais

sensíveis a diferentes estresses, pois incorporam vários mecanismos que são avaliados a partir de transientes da fluorescência OJIP (Tsimilli-Michael & Strasser, 2008). O leve aumento de PI_{ABS} no início do estresse por alagamento, pode ser interpretado como uma compensação por sua baixa capacidade fotossintética (Oukarroum et al., 2007), de maneira a adaptar-se ao estresse inicial.

Os dados dos parâmetros de trocas gasosas determinados durante o transcorrer período de estresse são apresentados na Figura 2. Sob condições de déficit hídrico verificou redução na taxa assimilatória líquida do CO_2 (A) (Figura 2A), sendo mais marcante após cinco dias de estresse, atingindo valores mínimos a partir do oitavo dia após o início da restrição hídrica. As plantas submetidas ao alagamento (Figura 2B) também apresentaram redução em A, porém em intensidade menor que nas plantas com restrição hídrica (Figura 2A). Em relação à condutância estomática (g_s) houve pequena diferença entre os estresses, de forma que as plantas submetida ao déficit hídrico induziu ao completo fechamento dos estômatos após oito dias de restrição hídrica (Figura 2C), todavia, para o alagamento os menores valores ocorreram a partir do quarto dia de estresse, porém sem o fechamento completo dos estômatos (Figura 2D). Também, a concentração interna de CO_2 (C_i) foi reduzida com o decorrer dos estresses, contudo sem diferenciação de comportamento entre os estresse (Figuras 2E e 2F). A taxa transpiratória (E) (Figuras 2G e H) refletiu o verificado para a condutância estomática.

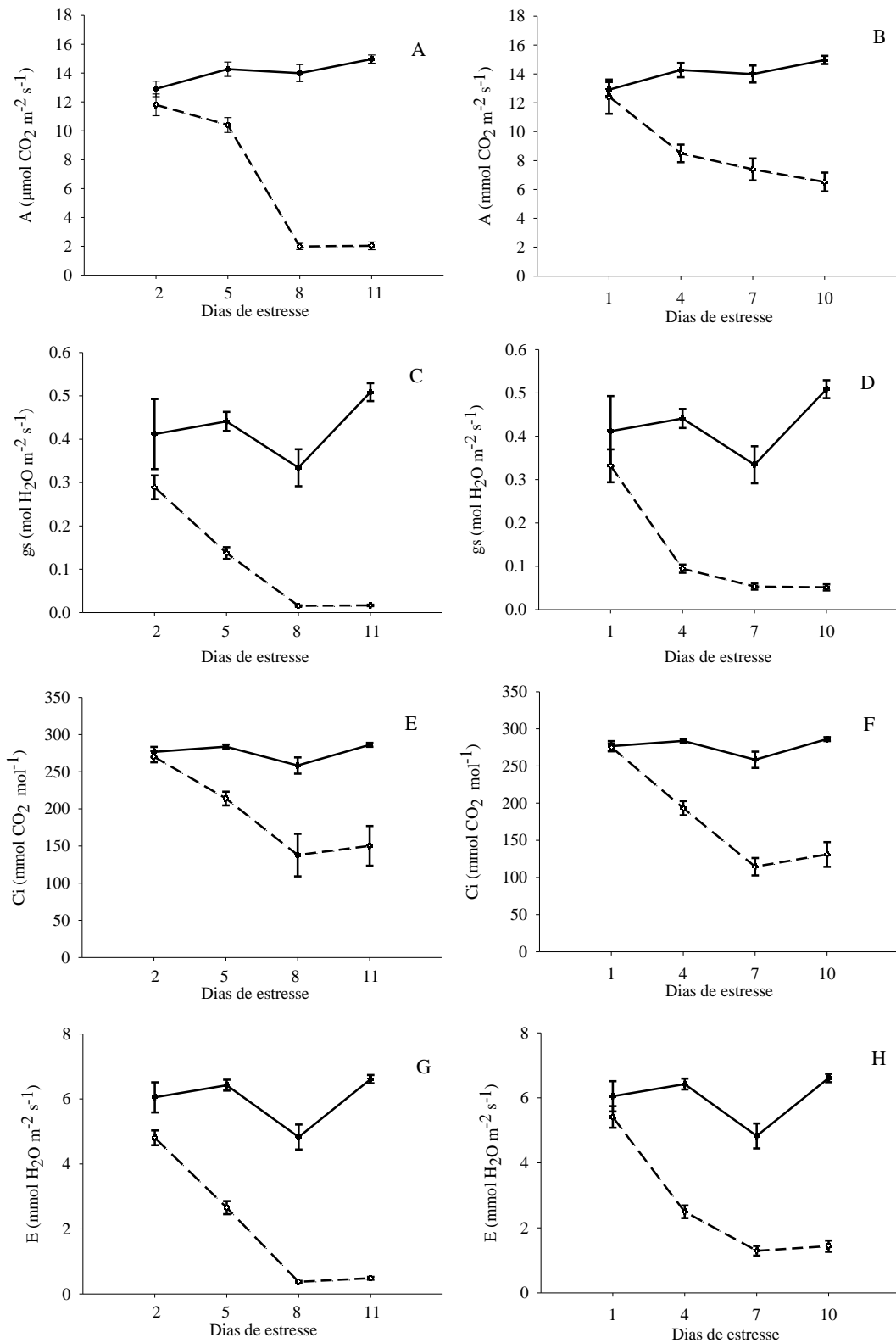


Figura 2. Parâmetros de trocas gasosas de folhas de ameixeira 'América' (*Prunus salicina* Lindh.), submetidas ao déficit hídrico (A, C, E, G) e alagamento (B, D, F, H). Taxa fotossintética líquida (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i) ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Linha contínua representa controle e linhas pontilhadas os respectivos estresses (barra indica erro padrão da média).

Os resultados das trocas gasosas, determinados no presente trabalho, corroboram as indicações que a restrição hídrica no solo provoca decréscimo nos parâmetros relacionados às trocas gasosas nas folhas e, conseqüentemente, na taxa fotossintética líquida (Chartzoulakis et al., 2002). Este declínio pode ser atribuído tanto a diminuição na condutância estomática, como em limitações não estomáticas quanto a alterações na funcionalidade do aparelho fotossintético verificada pelas alterações na fluorescência da clorofila *a*. A redução nas taxas de assimilação de CO₂ nas plantas de ameixeira, expostas aos estresses hídricos estudados, foi dependente do fechamento estomático, que diminuiu a disponibilidade interna de CO₂ e restringiu a perda de água através da transpiração, além da redução em parâmetros de fluorescência da clorofila associados principalmente ao FS I.

O fechamento estomático ajuda a manter o elevado teor de água nas folhas o que resulta na redução da atividade fotossintética e transpiração (Tezara et al., 2002). Contudo, há referências de que, sob estresse leve, um ligeiro declínio na condutância estomática pode ter efeito protetor, permitindo a planta economizar e melhorar a eficiência do uso da água (Chaves et al., 2009) e, ainda, que os estômatos tem alta capacidade de adaptação às mudanças na disponibilidade de água (Gratani & Ghia 2002).

Em contrapartida, a diminuição na condutância estomática leva a diminuição na concentração interna de CO₂ e na transpiração. A concentração interna de CO₂ é um parâmetro que descreve a disponibilidade de dióxido de carbono para o processo fotossintético, sendo que a redução do *C_i* pode indicar a ocorrência das limitações dos estômatos (Chaves et al., 2009), de forma que, a resistência estomática e do mesófilo reduzem a concentração de CO₂ que pode atingir os cloroplastos.

As avaliações da fluorescência da clorofila *a*, juntamente com trocas gasosas, possibilitaram o entendimento da atividade fotossintética das plantas de ameixeira nas condições impostas pelos estresses hídricos aplicados. As menores taxas fotossintéticas foram obtidas no transcórrer do tempo de déficit hídrico e alagamento, juntamente com o comprometimento dos fatores relacionados à atividade do fotossistema II, a exemplo do aumento da dissipação de energia por centro de reação (*DI₀/RC*) ao final do experimento, devido, provavelmente, ao

fechamento estomático ocorrido ao oitavo e sétimo dias para o déficit hídrico e alagamento, respectivamente.

Visando estabelecer se os índices de performance são correlacionados com a taxa assimilatória líquida, foi realizada a análise de correlação de Pearson entre todos os valores dos índices de performance com as respectivas taxa assimilatória líquida, independente do tratamento e época do estresse. Os resultados indicaram que a correlação entre $PI_{ABS,total}$ e taxa assimilatória líquida foi positiva e altamente significativa ($r=0,60$, $p < 0,01$), da mesma forma para o PI_{ABS} e taxa fotossintética ($r=0,40$, $p < 0,01$). Pode-se, desta forma, inferir que os PI são indicadores positivos da atividade fotossintética, sendo que o $PI_{ABS,total}$ seria mais adequado, visto que este parâmetro engloba todos as etapas do fluxo energético na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese.

4.CONCLUSÃO

Plantas de ameixeira cv. América apresentam redução na atividade fotossintética em resposta ao déficit e excesso de água no sistema de raízes, porém são mais suscetíveis a restrição hídrica.

Em ambos estresses, a redução da fotossíntese líquida está associada à redução da condutância estomática e ao acréscimo no fluxo de dissipação por centro de reação (DI_0/RC).

A atividade do fotossistema I é mais sensíveis a ambos os estresses, sendo mais afetada sob déficit hídrico.

Existe uma correlação positiva entre a taxa de assimilação líquida de CO_2 e o $PI_{ABS,total}$, sendo um parâmetro indicativo da taxa assimilatória líquida.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, Ministério de Ciência e Tecnologia e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul, pelo apoio.

6.REFERENCIAS

- AKCAY, U; ERCAN, O; KAVAS, M; YILDIZ, L; YILMAZ, C; OKTEM, H.A; YUCEL, M. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.61, p.21–28, 2010.
- APPENROTH, K.J; STÖCKEL, J; SRIVASTAVA, A; STRASSER, R.J; Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. **Environmental Pollution**, London, v.115, p.49-64, 2001.
- CHARTZOULAKIS, K; PATAKAS, A; KOFIDIS, G; BOSABALIDIS, A; NASTOU, A. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.95, p.39–50, 2002.
- CHAVES, M. M; FLEXAS, J; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, London, v.103, p.551–560, 2009.
- CHRISTEN, D; SCHÖNMANN, S; JERMINI, M; STRASSER, R.J; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 60; p.504–514, 2007.
- DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Palo Alto, 48:223-250, 1997.
- ESMENJAUD, D; VOISIN, R; VAN GHELDER, C; BOSSELUT, N; LAFARGUE, B; DI VITO, M; DIRLEWANGER, E; POËSSEL, J.L; KLEINHENTZ, M. Genetic dissection of resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in plum, peach, almond, and apricot from various segregating interspecific *Prunus* progenies. **Tree Genetics & Genomes**, V.5, p.279-289, 2009.
- EULLAFFROY, P; FRANKART, C; AZIZ, A; COUDERCHET, M; BLAISE, B. Energy fluxes and driving forces for photosynthesis in *Lemna minor* exposed to herbicides. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 90, p.172–178, 2009
- GRATANI, L; GHIA, E. Changes in morphological and physiological traits during leaf expansion of *Arbutus unedo*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.48, p.51-60, 2002.

HOAGLAND, D.R; ARNON D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, v.347, p.1–32, 1950.

JIANG, H; CHEN,L; ZHENG, J; HAN, S; TANG, N; SMITH, B.R. Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in Citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescence transient. **Tree Physiology**, Oxford, v.28, p.1863–1871, 2008.

NAR, H; SAGLAM, R; TERZI, E; VÁRKONYI, Z; KADIOĞLU,A. Leaf rolling and photosystem II efficiency in *Ctenanthe setosa* exposed to drought stress. **Photosynthetica**, Prague, v.47, p.429-436, 2009.

OUKARROUM, A; MADIDI, S.E; SCHANSKER, G; STRASSER, R.J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.60, p.438–446, 2007.

ROUHI, V; SAMSONB, R; LEMEURB, R; VAN DAMMEA, P. Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.59, p.117–129, 2007.

SHAO, H.B; CHU,L.Y; JALEEL, C.A; ZHAO, C. X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p. 215–225, 2008.

STRASSER, B.J; STRASSER, R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed) **Photosynthesis: from Light to Biosphere**, Montpellier, France , p. 977– 980, 1995.

STRASSER, R.J; SRIVASTAVA, A; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M; PATHRE, U; MOHANTY ,P. (Ed). **Probing photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation**. Bristol, UK, p.443-480., 2000.

TERZİ, R; SAĞLAM, A; KUTLU, N; NAR, H; KADIOĞLU, A. Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Turkish journal of botany**, Ankara, v. 34, p.1-10, 2010.

TEZARA, W; MITCHELL, V; DRISCOLL, S.P; LAWLOR, D.W. Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. **Journal of experimental botany**, Elmsford, v.53, p.1781-1791, 2002.

THOREN, D; THOREN, P; SCHMIDHALTER, U. Influence of ambient light and temperature on laser-induced chlorophyll fluorescence measurements. **European Journal of Agronomy**, v.32, p.169–176, 2010.

TSIMILLI-MICHAEL, M; STRASSER, R.J. In vivo assessment of plants vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. In: A. VARMA, A. (Ed) **Mycorrhiza.**, Uttar Pradesh, India., p.679-703, 2008.

CAPÍTULO III

ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA EM PORTA-ENXERTO HÍBRIDO DE PESSEGUEIRO SUBMETIDO À RESTRIÇÃO HÍDRICA E ALAGAMENTO*

*Photosynthetic activity in the rootstock of hybrid peach trees submitted to water
restriction and flooding*

RESUMO – O trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito do alagamento e do déficit hídrico (seca) sobre a atividade fotossintética em plantas do porta-enxerto híbrido ‘GxN-9’ (*P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Bastsch), cultivadas em casa de vegetação. Fluorescência da clorofila *a* e as trocas gasosas foram analisadas em plantas de aproximadamente 12 meses. A redução da atividade fotossintética em ambos os estresses esteve relacionada com a diminuição da eficiência de carboxilação, porém sem afetarem a concentração interna de gás carbônico. Os parâmetros do Teste-JIP revelaram mudanças nos processos de fluxo energético demonstrando que em condições de alagamento o porta-enxerto “GxN-9” diminuiu consideravelmente o índice de performance fotossintético, o que resultou numa diminuição considerável da taxa assimilatória líquida.

Palavras-chave: *P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Bastsch, Fluorescência da Clorofila *a*, Teste-JIP, Trocas Gasosas, Estresse abiótico

ABSTRACT – This study aimed to evaluate the effect of flooding and water restriction (drought) on the photosynthetic activity in plants of the hybrid rootstock ‘GxN-9’ (*Prunus dulcis* Mill. x *Prunus persica* L. Bastsch), grown in a greenhouse. Chlorophyll fluorescence and gas exchange were analyzed in plants of approximately 12 months. The reduction of photosynthetic activity in both the stresses were associated with decreased carboxylation efficiency, but without affecting the internal concentration of carbon dioxide. The JIP-test parameters revealed changes in the energy flux processes demonstrating that in terms of flooding the rootstock GxN-9 the rate of photosynthetic performance significantly decreases, resulting in a considerable decrease in net assimilation rate.

Keywords: *Prunus dulcis* Mill. x *Prunus persica* L. Bastsch, Chlorophyll *a* Fluorescence, JIP-test, Gas Exchange, Abiotic stress

* Artigo aceito pela revista Brazilian Journal of Plant Physiology

INTRODUÇÃO

O estresse hídrico é considerado importante fator ambiental que compromete a fotossíntese, afetando o crescimento das plantas (Akçay et al., 2010). As plantas respondem a esse estresse por meio de mecanismos adaptativos possibilitando que as fases fotoquímica e bioquímica da fotossíntese suportem situações adversas (Oukarroum et al., 2007).

A capacidade fotossintética é progressivamente reduzida em condições de estresse hídrico, como consequência, há diminuição no aproveitamento da energia luminosa, fazendo que apenas parte dessa energia absorvida pelo aparato fotossintético seja utilizada para a produção de ATP e NADPH₂, aumentando a fotoinibição (Oukarroum et al., 2007).

O déficit hídrico tem profundo impacto sobre os sistemas ecológicos e agrícolas, visto que as reações da planta a esse estresse diferem em vários níveis de organização, dependendo da intensidade e da duração do estresse, da espécie ou estágio de desenvolvimento (Shao et al., 2008). Por outro lado, o alagamento do solo confere restrições ao cultivo de muitas espécies, devido à baixa disponibilidade de oxigênio ao sistema radicular (Drew, 1997), o que pode ser prejudicial ou mesmo letal às plantas, pois bloqueia a transferência de oxigênio e outros gases entre o solo e a atmosfera (Steffens & Sauter, 2010).

A ação desses tipos de estresses pode induzir alterações profundas no metabolismo das plantas e seu efeito pode ser avaliado pela análise de diferentes parâmetros. A análise de fluorescência das clorofilas a permite monitorar mudanças no aparato fotossintético sem destruir as plantas, sendo uma técnica altamente sensível (Tsimilli-Michael & Strasser, 2008). A análise da cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a*, pelo uso do Teste-JIP (Strasser & Strasser, 1995), possibilita a compreensão e interpretação, desde a absorção da energia luminosa pelo sistema antena do fotossistema II (FSII) até a redução dos aceptores finais de elétrons do fotossistema I (FSI).

O gênero *Prunus*, inclui espécies produtoras de frutos com grande importância comercial (a exemplo do pessegueiro, amêndoeira, ameixeira, damasqueiro e cerejeira), sendo que várias são utilizadas como porta-enxertos e ornamentais. O sucesso do cultivo de espécies frutíferas de caroço na região sul do

Brasil, depende de alguns requisitos importantes, entre os quais, a utilização de mudas com qualidade garantida, para obtenção de elevada produtividade do pomar. Além disso, esta região pode apresentar, durante o ano, períodos de seca ou excesso de chuva, que combinado com solos com deficiência na retenção de água e/ou de drenagem, podem comprometer a produção das plantas. Assim, para o sucesso da implementação de espécies frutíferas há necessidade da utilização de porta-enxertos tolerante a estes estresses.

O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do alagamento e do déficit hídrico (seca) sobre a atividade fotossintética em plantas do porta-enxerto híbrido 'GxN-9' (*P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Bastsch), a fim identificar parâmetros que possam ser marcadores desses estresses.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Mudas do porta-enxerto híbrido 'GxN-9' (*P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Batsch), obtidas por meio de reprodução assexuada via cultura de tecidos no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Botânica – Universidade Federal de Pelotas, foram transplantadas para vasos de polietileno com volume de 10 L, contendo substrato comercial (Plantmax[®]), e periodicamente supridas com solução nutritiva (Hoagland e Arnon, 1950). As mudas foram mantidas em casa de vegetação e, quando atingiram aproximadamente 12 meses, foram submetidas aos tratamentos: (1) alagamento, que consistiu da manutenção de lamina d'água de aproximadamente 25 mm acima do nível do solo e (2) déficit hídrico, que consistiu da suspensão da irrigação e o controle (3), o qual foi irrigado diariamente. Foram avaliados os parâmetros de fluorescência transiente da clorofila *a* e de trocas gasosas, no primeiro, quarto, sétimo e décimo dia para as plantas alagadas e no segundo, quinto, oitavo e décimo primeiro para as plantas em déficit hídrico.

A fluorescência transiente da clorofila *a*, foi determinada utilizando quatro folhas maduras, não destacadas da planta, de cada repetição. As quais foram adaptadas ao escuro por 30 minutos, totalizando 12 leituras. As intensidades de fluorescência foram medidas utilizando-se fluorômetro portátil Handy-PEA (Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, PE 30 4NE, UK), após a emissão de um pulso saturante de luz vermelha de aproximadamente $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As

intensidades de fluorescência foram medidas a 50, 100, 300 μs , 2 (F_J), 30ms (F_I) e F_M (fluorescência máxima), sendo considerada como fluorescência inicial (F_0) a intensidade medida a 50 μs .

A partir das intensidades de fluorescência, foram calculados os parâmetros do Teste-JIP (Strasser e Strasser, 1995), com o emprego do software 'Biolyzer' - Laboratory of Bioenergetics, University of Geneva, Switzerland (gentilmente cedido pelo Dr. R. Strasser).

As trocas gasosas foram medidas em folhas maduras, completamente expandidas, localizadas no terço médio de cada ramo utilizando-se um analisador portátil a infra-vermelho de CO_2 (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). As leituras foram realizadas em três folhas por planta, totalizando nove folhas por tratamento e por coleta. As medidas foram realizadas entre as 9:00 e 11:00hs, com concentração de CO_2 na câmara de 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e densidade de fluxo de fótons de 1.200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, utilizando-se a fonte luminosa LI-COR 6400-02, acoplada a câmara de medida (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA LI-COR 6400-11).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (3 x 4) sendo três tratamentos (regimes hídricos) e quatro coletas, e as médias comparadas pelo Teste Tukey ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos fluxos específicos por centro de reação (RC), foi determinado que os fluxos de absorção (ABS/RC), de captura (TR_0/RC) e, principalmente, de dissipação de energia por centro de reação (DI_0/RC) aumentaram em relação ao controle para ambos os estresses (Fig. 1A e B). Contudo, os fluxos de transporte de elétrons (ET_0/RC), de redução do acceptor final de elétrons (RE_0/RC) e o número total de transportadores de elétrons por centro de reação (EC_0/RC) foram reduzidos em relação ao controle.

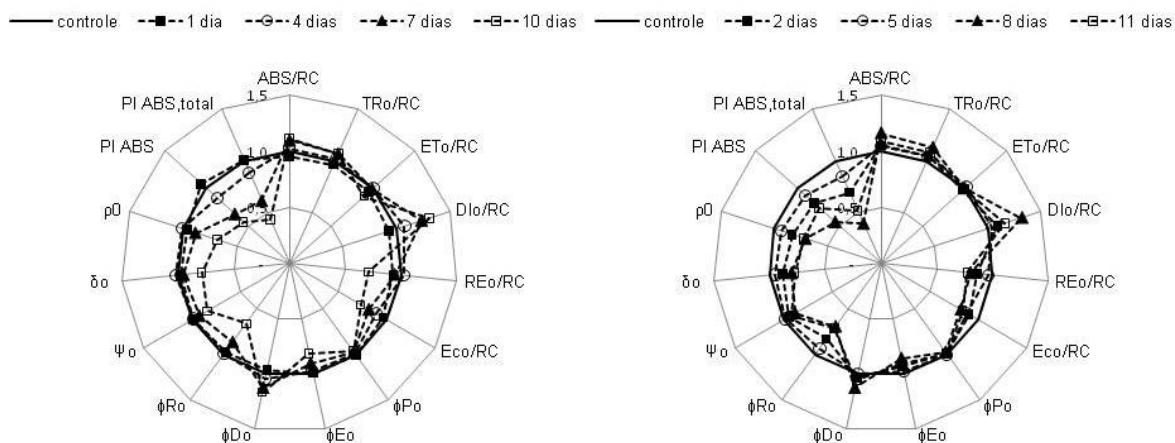


Figura 1. Parâmetros do Teste-JIP calculados a partir da fluorescência transiente da clorofila *a* em plantas porta-enxerto híbrido 'GxN-9' (*P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Bastsch) submetidas ao alagamento (A) e déficit hídrico (B) por diferentes períodos. Para cada parâmetro os valores foram normalizados, utilizando como referência o respectivo controle.

Para parâmetros do Teste-JIP que descrevem os rendimentos quânticos (Fig. 1A e B) foi detectado que: i. o rendimento quântico fotoquímico (ϕ_{P_0} ou TR_0/ABS), não apresentou efeito dos estresses hídricos estudados; ii. o rendimento quântico do transporte de elétrons (ϕ_{E_0} ou ET_0/ABS) foi mais afetado apenas pelo alagamento sendo os menores valores observados aos 10 dias; iii. o rendimento quântico do transporte de elétrons de Q_A^- ao acceptor final de elétrons do FSI (ϕ_{R_0} ou RE_0/ABS) foi o parâmetro que teve a maior redução em relação ao controle em ambos os estresses. Nas plantas alagadas os menores valores foram obtidos aos 10 dias de alagamento. Enquanto nas plantas sobre déficit hídrico os menores valores foram a partir o oitavo dia de restrição hídrica.

Os parâmetros que descrevem a eficiência do fluxo energético ($ET_0/TR_0 - \psi_0$; $RE_0/ET_0 - \delta_0$ e $RE_0/TR_0 - \rho_0$) apresentaram comportamento distinto entre os tipos de estresses. Nas plantas submetidas ao alagamento houve redução acentuada aos 10 dias de alagamento nos três parâmetros. Em contrapartida, nas plantas sob déficit hídrico a redução foi gradual em resposta ao período de estresse.

Os índices de performance PI_{ABS} e $PI_{ABS,total}$ apresentaram comportamento distinto para as plantas submetidas aos dois estresses. Assim, nas plantas alagadas, a redução em ambos os parâmetros ocorreu apenas a partir do quarto dia de estresse (Fig. 1A), enquanto que as plantas submetidas ao estresse por restrição hídrica, a redução foi observada após o segundo dia de seca (Fig. 1 B).

Para as plantas alagadas, a taxa assimilatória líquida de CO₂ (A) e a condutância estomática (gs) foram reduzidas acentuadamente, em relação ao controle, após sete dias, sem alteração na concentração interna de CO₂, que se manteve semelhante ao controle. A taxa transpiratória (E) atingiu os menores valores aos sete dias, apresentando aumento da transpiração no décimo dia. A eficiência de carboxilação, ou seja, a relação A/Ci diferiu do controle aos 10 dias de alagamento e aos 11 dias de seca (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros de trocas gasosas de plantas do porta-enxerto híbrido 'GxN-9' (*P. dulcis* Mill. x *P. persica* L. Bastsch) submetidas ao déficit hídrico e alagamento por diferentes períodos.

		Coleta ⁽¹⁾			
		1	2	3	4
A (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Controle ⁽²⁾	11,01 a B	11,67 a A	12,25 a A	12,69 a A
	Déficit hídrico	10,46 ab B	11,14 a A	9,87 ab B	7,94 b B
	Alagamento	13,35 a A	12,83 a A	8,59 b B	7,79 b B
Ci (μmol CO ₂ mol ⁻¹)	Controle	298 a B	297 a A	278 a A	294 a A
	Déficit hídrico	307 a B	303 a A	302 a A	305 a A
	Alagamento	297 a B	290 a A	194 b B	244 a B
E (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	Controle	6,57 a A	5,82 ab B	5,16 b A	6,40 a A
	Déficit hídrico	6,96 a A	5,42 b B	4,93 bc A	4,52 c B
	Alagamento	7,00 a A	6,55 a A	2,08 c B	3,10 b C
gs (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	Controle	0,439 a B	0,442 a A	0,412 a A	0,468 a A
	Déficit hídrico	0,506 a A	0,462 ab A	0,389 bc A	0,319 c B
	Alagamento	0,547 a A	0,446 b A	0,099 c B	0,139 c C
EUA	Controle	1,68 b B	2,01 ab A	2,54 a B	1,99 ab B
	Déficit hídrico	1,50 b B	2,05 a A	1,99 a B	1,74 ab B
	Alagamento	1,91 b A	1,97 bc A	4,29 a A	2,65 b A
Eficiência de carboxilação (A/Ci)	Controle	0,037 a B	0,040 a A	0,044 a A	0,043 a A
	Déficit hídrico	0,034 a B	0,037 a A	0,033 a B	0,026 b B
	Alagamento	0,045 a A	0,045 a A	0,045 a A	0,033 b B

(1) para tratamento de alagamento coletas correspondem a 1, 4, 7 e 10 dias após início do estresse; para o tratamento de déficit hídrico coletas correspondem a 2, 5, 8 e 11 dias após início do estresse. (2) Diferença significativa indicadas por diferentes letras maiúsculas na coluna e minúsculas da linha (Tuckey a 5%)

A restrição hídrica proporcionou queda na taxa fotossintética líquida, a qual atingiu valores próximos ao alagamento na ultima coleta, sendo que a condutância

estomática decresceu com o transcorrer do estresse. A taxa transpiratória acompanhou o comportamento da condutância estomática e a concentração interna de CO_2 manteve-se semelhante às plantas controle. A eficiência de carboxilação diminuiu com o passar dos dias de estresse, chegando a valores menores que o controle aos 11 dias de déficit hídrico (Tabela 1).

A interpretação da fluorescência transiente das clorofilas *a* revela mudanças nos processos de fluxo energético, para a redução do pool de plastoquinona (PQ) e do plastoquinol (PQH_2), até os aceptores finais PSI.

O aumento de ABS/RC, medida do tamanho aparente da antena (absorção total ou clorofila total por centro de reação ativo), pode significar que: (a) uma fração dos RC está inativo ou, (b) a antena que fornece energia de excitação para RC ativos, aumentou de tamanho (Yusuf et al., 2010). Considerando que, o número total de transportadores de elétrons por centro de reação (EC_0/RC) diminuiu, o aumento em ABS/RC pode estar associado ao fato de que, as clorofilas do sistema antena transferiram éxciton para os centros de reação ativos, mas ocorreu dissipação desta energia de excitação na forma de calor.

A dissipação de calor pode ser confirmada pelo aumento no fluxo de dissipação de energia por RC (DI_0/RC) e no rendimento quântico para dissipação ($\phi_{\text{D}0}$). Essa dissipação refere-se à perda de parte da energia absorvida pelo FSII, por meio de calor, emissão de fluorescência ou ainda, transferência de energia para outros sistemas (Strasser et al., 2000). A dissipação de energia ao nível de sistema antena reduz a proporção de energia absorvida na fase fotoquímica e os riscos de excesso de excitação, relacionado ao fluxo de elétrons (Bussotti et al., 2010).

Os aumentos em DI_0/RC e $\phi_{\text{D}0}$ foram acompanhados pelo fechamento estomático, medido nos dois tipos de estresses. Assim, pode-se propor que a limitação da disponibilidade de CO_2 para as reações bioquímicas da fotossíntese, reduza o fluxo energético na cadeia de transporte de elétrons de maneira a regular o formação de poder redutor e prevenir a fotoinibição.

O rendimento quântico fotoquímico ($\phi_{\text{P}0} = \text{TR}_0/\text{ABS} = F_V/F_M$) não demonstrou ser indicador de estresse, visto que apresentou valores constantes ao passar dos dias de alagamento e déficit hídrico, corroborando com relatos recentes que citam que este parâmetro não é bom indicador para estresses hídricos (Oukarroum et al., 2007). Uma ligeira diminuição do rendimento quântico fotoquímico, durante a seca,

foi observada por Oukarroum et al., 2007, acompanhada por um declínio no índice de performance (PI_{ABS}) e por mudanças significativas em outros parâmetros de Teste-JIP. Quando irrigadas, PI_{ABS} teve valores que sugerem não acarretar danos irreversíveis aos fotossistemas. O efeito do déficit hídrico é reversível, desde que ϕ_{P0} permaneça inalterado (Oukarroum et al., 2007). Entretanto, alterações no aparato fotossintético podem ser confirmadas pelas alterações nos índices de performance (PI_{ABS} e $PI_{ABS,total}$) (Strasser et al., 2000, 2004, Tsimilli-Michael e Strasser, 2008). Estes parâmetros são excelentes indicadores de estresses, pois permitem a interpretação completa do sistema de absorção e aproveitamento da energia na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (Oukarroum et al., 2007).

A fluorescência em folhas adaptadas ao escuro pode revelar a eficiência potencial da fotossíntese. Contudo, o declínio de alguns parâmetros como PI_{ABS} pode ser relacionado a uma diminuição na taxa fotossintética, pois em condições favoráveis, as eficiências "potencial" e "real" tendem a estar relacionadas (Bussotti et al., 2010).

O índice de performance total ($PI_{ABS,total}$), que mede a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI (Tsimilli-Michael & Strasser, 2008), diminuiu consideravelmente com o decorrer dos dias de alagamento. A redução da densidade de FSI e o decréscimo dos aceptores finais de elétrons (ferredoxina e $NADP^+$) faz com que ocorra desequilíbrio entre os elétrons enviados pela cadeia de transporte de elétrons até os receptores que estão além do FSI (Bussotti et al., 2010).

A diminuição da taxa fotossintética líquida aos oito dias de restrição hídrica, assim como nas fases posteriores, foi dependente do fechamento estomático. A fotossíntese em plantas estressadas pela seca é fortemente inibida pelo fechamento dos estômatos, o que limita a difusão de CO_2 para os cloroplastos, provocando diminuição da concentração interna de CO_2 (Oukarroum et al., 2009).

A diminuição da taxa fotossintética líquida após sete dias em condições de alagamento, foi dependente na diminuição da condutância estomática, que limitou fortemente o influxo de CO_2 no mesófilo e, portanto, restringiu também a perda de água através da transpiração. Mudanças em g_s dependem de fatores hidráulicos das células estomáticas (conteúdo de água, potencial hídrico e pressão de turgor), incluindo o transporte de água através das membranas além de processos metabólicos (por exemplo, os relacionados ao ABA) (Lawlor & Tezara, 2009).

A redução da assimilação de gás carbônico, 10 dias após o alagamento e no 11º dia de déficit hídrico, foi caracterizada pela diminuição na eficiência de carboxilação nesse mesmo período. A redução de poder redutor e moléculas transportadoras de energia pode ser uma das explicações para a queda de tais parâmetros.

4. CONCLUSÃO

Há uma resposta diferencial para plantas de GxN-9 em função do alagamento e ao déficit hídrico. A análise do Teste-JIP foi eficiente para determinar o maior nível de estresse sob condições alagadas e, juntamente com as análises de trocas gasosas, pode-se concluir que GxN-9 é mais sensível ao excesso de água no sistema radicular, em relação ao déficit hídrico.

A redução da atividade fotossintética está relacionada com a diminuição da eficiência de carboxilação, mesmo que as condições impostas pelos estresses não afetem a concentração interna de gás carbônico.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior e FINEP e Ministério de Ciência e Tecnologia, pelo apoio financeiro.

6. REFERENCIAS

Akcay U, Ercan O, Kavas M, Yildiz I, Yilmaz C, Oktem HA, Yucel M (2010) Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. *Plant Growth Reg.* 6:21–28.

Bussotti F, Desotgiua R, Cascio C, Pollastrini M, Gravano E, Gerosab G, Marzuoli R, Nali C, Lorenzini G, Salvatori E, Manesd F, Schaub M, Strasser RJ (2010) Ozone stress in woody plants assessed with chlorophyll a fluorescence. A critical reassessment of existing data. *Environ. Exp. Bot.* 73:19-30, 2011.

Drew MC (1997) Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and Acclimation Under Hypoxia and Anoxia. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 48:223–250.

Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for growing plants without soil. *Cal. Agric. Exp. Sta Ciru.* 347:1–32.

Lawlor DW, Tezara T (2009) Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot.* 103:561–579.

Oukarroum A, Madidi SE, Schansker G, Strasser RJ (2007) Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environ. Exp. Bot.* 60:438–446.

Oukarroum A, Schansker G, Strasser RJ (2009) Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Plantarum.* 137:188–199.

Shao HB, Chu LY, Jaleel CA, Chao (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C. R. Biologies.* 331:215–225

Steffens B, Sauter M (2010) G proteins as regulators in ethylene-mediated hypoxia signaling. *Plant Sig. Beh.* 5:375-378.

Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis P (ed) *Photosynthesis: from Light to Biosphere*, pp 977– 980. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands

Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M., Pathre U, Mohanty P. (eds). *Probing photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*, pp443-480. Taylor & Francis, London.

Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava, A (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, GC, Govindjee, (eds). *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration Series* pp321-362. Kluwer Academic Publishers, Rotterdam.

Tsimilli-Michael, M. and Strasser, R. J. 2008. In vivo assessment of plants' vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. In: *Mycorrhiza*. A. Varma (ed), p. 679-703, DOI: 10.1007/978-3-540-78826-3_32

Yusuf MM, Kumar D, Rajwanshi R, Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Govindjee NB Sarin (2010). Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll fluorescence measurements. *Biochem. Biophys. Acta.* 1797:1428–1438.

CONCLUSÃO GERAL

A fluorescência transiente da clorofila *a* por meio da análise dos parâmetros do Teste-JIP é ferramenta eficiente nas avaliações das respostas das plantas estudadas do gênero *Prunus* às variações ambientais, permitindo identificar alterações no metabolismo destas plantas em condições de campo e casa de vegetação. Entre os parâmetros, o índice de performance total é o mais eficiente para descrever os efeitos das condições ambientais.

Os resultados demonstram que as associações da cultivar Maciel com os diferentes porta-enxertos empregados, não exerceram influência no comportamento do aparato fotossintético, que por sua vez, foi mais afetado pelas condições climáticas adversas, representadas pela alta pluviosidade no período de estudo deste trabalho.

Em condições de ambiente controlado plantas de ameixeira da cultivar América foram mais sensíveis às condições de déficit hídrico, enquanto, o porta-enxerto híbrido “GxN-9”, às condições de alagamento do solo.