

ALEX-ALAN FURTADO DE ALMEIDA

EMIÇÃO DE FLUORESCÊNCIA E EVOLUÇÃO DE OXIGÊNIO
FOTOSSINTÉTICO EM *Coffea arabica* L. DURANTE
UM CICLO DE DESIDRATAÇÃO/REIDRATAÇÃO

Tese Apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como Parte das Exigências do Curso de Fisiologia Vegetal, para Obtenção do Título de *Doctos Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
JANEIRO - 1993

À minha esposa Natália.

Aos meus filhos Filipe e Bruna.

Aos meus pais Juvenil e Odette.

Ao meu irmão José Itamar.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Natalia Maria Reis Oliveira Furtado, pelo reconhecimento e pela compreensão.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e à Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Professor Moacyr Maestri, pela orientação segura, amizade e consideração pessoal.

Aos Professores Paulo Roberto Mosquim, Nei Fernandes Lopes, Walter Brune e Marco Antonio Oliva Cano pelas críticas e sugestões.

Ao Professor Raimundo Santos Barros, pelas valiosas sugestões e pela amizade.

Ao Professor Alemar Braga Rena, pelas valiosas sugestões.

Ao pesquisador Antônio Alves Pereira e demais funcionários da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pelo fornecimento de material vegetal.

Ao pesquisador Antônio Teixeira Cordeiro, pela valiosa colaboração.

Aos funcionários do Laboratório de Fisiologia Vegetal pelo apoio e pela colaboração.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação, pela amizade, pelo convívio e pela colaboração.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ALEX-ALAN FURTADO DE ALMEIDA, filho de Juvenil Almeida e Odette Maria de Almeida, nasceu em Campo Belo (MG), aos 28 dias do mês de maio de 1959.

Cursou o primeiro grau e parte do segundo grau em Campo Belo (MG). Posteriormente, concluiu o segundo grau no Colégio Universitário (COLUNI), em Viçosa (MG).

Ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 1978. De 1980 a 1982, foi monitor da disciplina Fisiologia Vegetal (BVE-270). Graduou-se em Engenharia Agrônômica em julho de 1982.

Em junho de 1985, concluiu o curso de Fisiologia Vegetal, em nível de Mestrado, na mesma universidade.

Em março de 1985, ingressou no Centro de Pesquisa do Cacao (CEPEC), da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), como pesquisador assistente.

Iniciou o curso de Fisiologia Vegetal, em nível de Doutorado, na UFV, em agosto de 1988.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	viii
1 . INTRODUÇÃO	1
2 . REVISÃO DE LITERATURA	3
3 . MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Material Vegetal e Condições de Cultivo	18
3.2. Medição do Potencial Hídrico	20
3.3. Determinação do Teor Relativo de Água	20
3.4. Medição da Fluorescência	21
3.5. Determinação da Evolução de Oxigênio Fotossintético	22
3.6. Delineamento Experimental	23
4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. Evolução de Oxigênio	24
4.1.1. Resposta da Fotossíntese à Luz	24

4.1.2. Fotossíntese Sob Déficit Hídrico	30
4.2. Características de Emissão de Fluorescência ...	39
4.2.1. Ciclo de Desidratação	39
4.2.2. Ciclo de Reidratação	59
5. RESUMO E CONCLUSÕES	87
BIBLIOGRAFIA	89

EXTRATO

ALMEIDA, Alex-Alan Furtado de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 1993. Emissão de **Fluorescência e Evolução de Oxigênio Fotossintético em *Coffea arabica* L. Durante um Ciclo de Desidratação/Reidratação**. Professor Orientador: Moacyr Maestri. Professores Conselheiros: Raimundo Santos Barros e Paulo Roberto Mosquim

Acompanharam-se a evolução fotossintética de oxigênio e a cinética de indução da fluorescência lenta da clorofila, bem como a curva de resposta da fotossíntese potencial à densidade do fluxo luminoso, em folhas de mudas de café de 8 meses de idade, submetidas a desidratação e reidratação. Foram estudadas a progênie de Catimor UFV-1359, a linhagem de Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-44 e os híbridos H-421 [UFV 2143-236 EL 7 (Catuaí Amarelo - LCH 2077-2-5-30) x UFV 427-15 (Híbrido de Timor - CIFIC 1343/136)] e H-430 [UFV 2145-113 EL 7 (Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-81) x UFV 442-108 (Híbrido de Timor - CIFIC 2570)]. De modo geral, com a desidratação, as taxas fotossintéticas potenciais máximas

reduziram-se gradualmente para os diversos genótipos, a partir de um potencial hídrico de $-1,0$ MPa, à exceção da linhagem de Catuaí, em que a redução ocorreu a partir de $-0,8$ MPa. Durante a desidratação, aparentemente não houve perda de clorofila nas folhas de todos os genótipos, mas o fluxo de elétrons entre os dois fotossistemas sofreu redução, sendo a progênie de Catimor a menos afetada. Em contrapartida, as reações luminosas do fotossistema II e sua capacidade de reduzir o acceptor fotossintético primário de elétrons não foram afetadas pela deficiência hídrica. A recuperação das características da fluorescência da clorofila, para os diversos genótipos, antecedeu a recuperação da fotossíntese potencial, após a reidratação. No híbrido H-430 a fotofosforilação provavelmente recuperou-se mais lentamente. A progênie de Catimor apresentou a mais alta taxa fotossintética potencial máxima, ao contrário do híbrido H-421, cuja taxa foi inferior aos demais genótipos. O híbrido H-430 e a progênie de Catimor apresentaram os maiores rendimentos quânticos, enquanto o menor valor foi apresentado pela linhagem de Catuaí.

1 . INTRODUÇÃO

A deficiência hídrica reduz a atividade fotossintética no café (KUMAR e TIESZEN, 1980) e seu efeito sobre a evolução do oxigênio fotossintético permanece por algum tempo, após a reidratação e a conseqüente recuperação do potencial hídrico do tecido (RODRIGUES, 1988). Ao contrário dos resultados obtidos por HOLMGREN *et al.* (1965) e RAWSON *et al.* (1977), em várias espécies, BIERHUIZEN *et al.* (1969) demonstraram que a deficiência hídrica em café provocou maior diminuição na fotossíntese do que na transpiração. Por outro lado, KUMAR e TIESZEN (1980) atribuíram à resistência estomática, e não à mesofílica, a causa da queda da taxa fotossintética em genótipos de café sob estresse hídrico. Resultados semelhantes têm sido obtidos em outras espécies (BARRS, 1968; BOYER, 1970b; BRIX, 1962). Entretanto, existem indicações de que, sob deficiência hídrica moderada ou severa, a diminuição da atividade fotossintética pode ser atribuída ao aumento da

resistência mesofílica (BERKOWITZ e GIBES, 1982; BOYER, 1971a; BOYER e BOWEN, 1970; KAISER *et al.* 1981; PLAUT e BRAVDO 1973).

A medição da cinética de indução de fluorescência da clorofila a proporciona uma análise rápida e sensível para o monitoramento dos efeitos de vários estresses sobre o aparelho fotossintético (BAKER *et al.*, 1983; CRITCHLEY e SMILLIE, 1981; GOVINDJEE *et al.*, 1981; HETHERINGTON e SMILLIE, 1982; ROBINSON *et al.*, 1983; SMILLIE e NOTT, 1982). Embora tenha sido demonstrada uma correlação significativa entre fluorescência variável (diferença entre as fluorescências máxima e inicial) e potencial hídrico foliar, durante o período de deficiência hídrica, a fluorescência apenas não se mostrou útil como indicativa do *status* hídrico das espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabusta* (GOLBERG *et al.*, 1988).

Objetivando-se compreender melhor o efeito da deficiência hídrica na assimilação do carbono em café, acompanhou-se a evolução fotossintética do oxigênio e mediram-se as cinéticas de indução de fluorescência da clorofila, sob um ciclo de desidratação/reidratação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os processos parciais da fotossíntese podem ser afetados diferentemente pelas variações no potencial hídrico (Ψ_w) da folha ou dos cloroplastos (CONROY *et al.*, 1986; DOWNTON e MILLHOUSE, 1985; KECK e BOYER, 1974). A inativação reversível da oxidação da molécula de água é observada em várias espécies de plantas resistentes ao estresse hídrico, incluindo *Pinus radiata* (CONROY *et al.*, 1986), *Nerium oleander* (GOVINDJEE *et al.*, 1981; POWLES, 1984) e *Porphyra sanjuanesis* (WILTENS *et al.*, 1978). O lado oxidante do fotossistema II (PS II), onde o oxigênio é evoluído, parece ser sensível a vários tipos de estresses, como a desidratação, que causam injúria nas células das plantas (WILTENS *et al.*, 1978). Tilacóides isolados de cloroplastos de folhas expostas a déficit hídrico moderado ou severo, em condições de altas irradiâncias, apresentam uma baixa taxa de transporte de elétrons e, aparentemente, uma inibição da fotofosforilação (BOYER e BOWEN, 1970; BOYER, 1971a; KECK e

BOYER, 1974; BJÖRKMAN e POWLES 1984; MATTHEWS e BOYER, 1984). Além disso, o estresse osmótico por afetar a redução da ferredoxina, que por sua vez pode impedir a redução de NADP^+ e a atividade de certas enzimas do ciclo de Calvin, tais como a frutose e a sedoheptulose difosfatases (EC 3.1.3.11 e EC 3.1.3.37, respectivamente) ou a fosforibulocinase (EC 2.7.1.19) (BOAG e PORTIS, 1984; BERKOWITZ e GIBES, 1982, 1983 a,b).

Em células mesofilicas de *Xanthium strumarium*, as concentrações de varios intermediários do ciclo de redução do carbono fotossintético permanecem relativamente constantes e o fornecimento de ATP não é limitante para esse processo (SHARKEY e BADGER, 1982). Decréscimos na ativação e na concentração da Rubisco (EC 4.1.1.39) em folhas de citrus contribuem para a queda na atividade desta enzima durante períodos de deficiência hídrica, a qual é, entretanto, recuperada após a reidratação (VU e YELENOSKY, 1988). Por outro lado, é possível que o ácido abscísico afete a função da membrana plasmática modificando a atividade de ATPases dependentes de Mg^{2+} e estimuladas por K^+ . (ITAI e ROTH-BEJERANO, 1986; KASANO, 1979, LURIE e HENDRIX, 1979) e, por conseguinte, indiretamente a atividade da Rubisco, através da alteração do fluxo de ions, durante o estresse ambiental (SEEMANN e SHARKEY, 1987). Além disso, alguns autores demonstraram que o excesso de K^+ na folha protege parcialmente a fotossintese contra os efeitos prejudiciais do estresse hídrico, tendo em vista a possibilidade de troca de K^+ do citoplasma pelo H^+ do estroma, o que alteraria o pH

do estroma e restauraria a fotossíntese (PIER e BERKOWITZ, 1987).

A inibição das reações parciais da fotossíntese, sob condições de CO₂ saturante (MOHANTY e BOYER, 1976), é observada tanto em folhas desidratadas quanto em cloroplastos isolados de folhas com baixo Ψ_w (BOYER e BOWEN, 1970; FRY, 1972; KECK e BOYER, 1974; NIR e POLJAKOFF-MAYBER, 1967; PLAUT e BRAVDO, 1973).

Alguns autores verificaram que o estresse hídrico age primeiramente no aparelho fotossintético em nível de fosforilação e de reações bioquímicas (KAISER *et al.*, 1981; SHARKEY e BADGER, 1982; TURNER e WELLBURN, 1985). Em baixos potenciais hídricos foliares, observam-se perda de atividade do fator de acoplamento (ATP sintase) e mudanças conformacionais nas membranas do cloroplasto (YOUNIS *et al.*, 1979), causando um desacoplamento entre a fosforilação e o fluxo fotossintético de elétrons (CHAVES, 1991). Desta forma, a redução da taxa de assimilação do carbono, sob estresse hídrico, se deve, provavelmente, a um decréscimo da capacidade da fotofosforilação.

Estudos *in vitro*, com cloroplastos isolados (BERKOWITZ e GIBBS, 1983a; ROBINSON, 1985) e com tiras foliares (KAISER, 1982), mostram que a inibição da fotossíntese, em plantas sob estresse hídrico, pode ser atribuída à redução do volume do cloroplasto e à conseqüente concentração de solutos estromais (BERKOWITZ e GIBBS, 1983a; 1983b; KAISER *et al.*, 1981), com inibição de uma série de enzimas cloroplastídicas (KAISER e HEBER, 1981). KAISER (1987) sugere que a inibição de enzimas estromais, pelo

aumento das concentrações de eletrólitos ou por concentrações extremamente altas de proteínas, enfraquece a redução do carbono, durante estresse hídrico severo. A elevação do nível de ATP, induzido pela luz, em cloroplastos isolados, é menor em meio hipertônico, em relação ao isotônico (KAISER *et al.*, 1981). Em contrapartida, a desidratação osmótica de cloroplastos não afeta significativamente o transporte de elétrons (BERKOWITZ e GIBES, 1982; KAISER *et al.*, 1981).

Desidratação em nível celular e subcelular mostrou que a diminuição do volume do estroma está associada com a inibição do potencial fotossintético do cloroplasto (SEN GUPTA e BERKOWITZ, 1988). Após a transferência de cloroplastos isolados e intactos de uma solução hipertônica para uma isotônica, a integridade das membranas dos cloroplastos permanece inalterada (KAISER *et al.*, 1981). Por outro lado, os cloroplastos apresentam uma grande capacidade de ajustamento osmótico durante a queda inicial do potencial hídrico foliar (SEN GUPTA e BERKOWITZ, 1988) e esse ajustamento facilita a aclimação do mecanismo fotossintético ao estresse hídrico (SEN GUPTA e BERKOWITZ, 1987).

Sob estresse osmótico, a permeabilidade da membrana interna do cloroplasto varia momentaneamente, aumentando o influxo de solutos do meio e o efluxo de metabolitos do cloroplasto (KAISER e HEBER, 1981). Entretanto, as perdas das atividades cloroplastídicas não parecem estar associadas com a perda da integridade estrutural do cloroplasto, sob estresse hídrico severo (FELLOWS e BOYER, 1976). A

aclimação de cloroplastos *in vitro*, a baixo potencial osmótico, está relacionada com a manutenção tanto do volume do estroma quanto da fotossíntese (SEN GUPTA e BERKOWITZ, 1988). Tal aclimação foi demonstrada com células intactas incubadas em meio com potencial osmótico elevado (BERKOWITZ e KROLL, 1988). Além disso, outros estudos mostram também que a aclimação do cloroplasto, a baixo Ψ_w , pode reduzir o efeito do estresse hídrico sobre a fotossíntese (MATTHEWS e BOYER, 1984).

Evidências dos efeitos do estresse hídrico moderado sobre a fotossíntese incluem as variações no rendimento quântico em folhas de girassol (BOYER e BOWEN, 1970; BOYER, 1971a), na eficiência carboxilativa ao CO₂, na fotossíntese máxima, e nas atividades da Rubisco e da anidrase carbônica (EC 4.2.1.1) em folhas de algodoeiro (JONES, 1973). Entretanto, KAISER (1987) e CORNIC *et al.* (1989) verificaram que o rendimento quântico e a taxa fotossintética máxima de evolução de O₂, em condições de CO₂ saturante, não são reduzidos com o estresse hídrico até que haja uma perda severa de água (20 a 40%), revelando uma alta resistência do aparelho fotossintético. Alguns dados revelam que as reações fotoquímicas primárias e o transporte de elétrons, em protoplastos isolados (SHARKEY e BADGER, 1982) ou em folhas (BJÖRKMAN e POWLES, 1984; CORNIC *et al.*, 1989; GENTY *et al.*, 1987), não parecem ser muito afetados pela diminuição de Ψ_w , ao contrário da supressão da atividade de Hill em cloroplastos, de tecido foliar moderadamente desidratado (BOYER e BOWEN, 1970), e da inibição da atividade de PS 11, durante o início da desidratação (KECK e BOYER, 1974). Essa

resistência à desidratação (CORNIC *et al.*, 1989; KAISER, 1987, 1982) sugere que a sobrevivência da planta, sob estresse hídrico, resulta, em parte, da manutenção da capacidade fotossintética plena das folhas, por conseguinte, permitindo uma recuperação relativamente rápida da planta após a reidratação (CHAVES, 1991). Dependendo da espécie e da natureza da desidratação, a assimilação do carbono pode diminuir a valores próximos de zero, sem declínio significativo na capacidade fotossintética do mesófilo foliar (CHAVES, 1991).

De acordo com KAISER (1987), o decréscimo reversível da atividade fotossintética, a nível de cloroplasto, que ocorre normalmente em teores relativos de Água entre 40 e 70%, é provavelmente o resultado de efeito inibitório inespecífico, de aumento de solutos celulares para as enzimas envolvidas na fixação de CO₂, como foi sugerido por HSIAO (1973). Algumas espécies de ions, cuja concentração se intensifica com a desidratação, podem inibir a fotossíntese (KAISER, 1987), mas o aumento global de solutos tem um efeito positivo no funcionamento da planta, sob deficit hídrico, pela diminuição do Ψ_w foliar no qual ocorre o fechamento dos estômatos e pela manutenção da turgescência (CHAVES, 1991). Esse fenômeno, conhecido como ajustamento osmótico, envolve o acúmulo de solutos, que não podem ser utilizados para crescimento (MUNNS e WEIR, 1981), bem como a hidrólise de compostos de alto peso molecular (FOX e GEIGER, 1985; STEWART, 1971), o movimento de solutos entre compartimentos celulares (DAIE e WYSE, 1985; MORGAN, 1984) e

a mudança, em direção a sacarose, da síntese *de novo* de assimilados (QUICK *et al.*, 1989; VASSEY e SHARKEY, 1989).

O ajustamento osmótico e elástico contribuem para a manutenção da troca de gás em folhas de café desidratadas, provavelmente através de seus efeitos no volume simplástico (MEINZER *et al.*, 1990). Supõe-se que as diferenças entre genótipos, na manutenção do volume do protoplasto, em baixos Ψ_w , podem resultar da alteração da expressão gênica, sob estresse (SANTAKUMARI e BERKOWITZ, 1990).

O principal efeito secundário da desidratação, no metabolismo do carbono fotossintético, é a mudança na partição de carbono recém fixado, em direção a sacarose, que ocorre em várias espécies, em paralelo com o aumento da hidrólise de amido (CHAVES, 1991). Esta mudança pode ocorrer a curto prazo, com o aumento da razão sacarose/amido (QUICK *et al.*, 1989) e a longo prazo, com o incremento do "pool" de compostos de baixo peso molecular (ILJIN, 1957), que fazem parte, provavelmente, de uma resposta regulatória da planta para a manutenção da turgescência, sob baixa disponibilidade de água (MORGAN, 1984). Entretanto, não existem evidências do efeito inibitório direto do acúmulo de sacarose, quando do ajustamento osmótico, na atividade fotossintética de folhas de plantas sob estresse hídrico (CHAVES, 1991).

O estresse hídrico pode induzir um decréscimo na atividade de PS II (KECK e BOYER, 1974; MOHANTY e BOYER, 1976; TOIVONEN e VIDAVER, 1988; YOUNIS *et al.*, 1979). Em alguns casos, esta diminuição pode ser atribuída à

fotoinibição (BJÖRKMAN e POWLES, 1984; KRAUSE, 1988; POWLES e BJÖRKMAN, 1982), que é caracterizada pelo decréscimo da atividade dos centros de reação de PS II (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Portanto, o PS II desempenha um papel especialmente importante na resposta da fotossíntese, em plantas superiores, As perturbações do ambiente e aos estresses (BAKER, 1991).

Quando a irradiância aumenta progressivamente, observa-se comumente um declínio na eficiência quântica (PETERSON, 1990). Isto se deve, em parte, ao fechamento dos centros de PS II, quando o reservatório de plastoquinona se torna escasso, resultando em altas probabilidades de dissipação de energia radiante em forma de calor ou fluorescência (BUTLER e KITAJIMA, 1975; DIETZ *et al.*, 1985; HORTON e HAGUE, 1988; PETERSON *et al.*, 1988). A dissipação de energia luminosa em forma de calor está associada com a magnitude do gradiente de pH no tilacoide e com a fotoinibição (DEMMIG e BJÖRKMAN, 1987; DEMMIG *et al.*, 1987; HORTON e HAGUE, 1988). Portanto, folhas de plantas que normalmente se desenvolvem em plena luz solar, quando submetidas a altas irradiâncias, são muito menos susceptíveis à fotoinibição, em relação As folhas de espécies que crescem em condições de sombra (DEMMIG e BJÖRKMAN, 1987).

Os cloroplastos possuem vários sistemas protetores contra o dano fotoinibitório, como mecanismos de reparos que capacitam a planta a recuperar-se da fotoinibição (KRAUSE *et al.*, 1988). A inativação da oxidação da molécula de água pode impedir a formação de espécies ativas de oxigênio

(ELSTNER, 1982) e, por conseguinte, proteger as plantas do dano causado por luz (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Já a ocorrência de desfosforilação, sob condições fotoinibitórias, revela que a fosforilação é incapaz de desempenhar um papel atenuador da fotoinibição (DEMMIG *et al.*, 1987), embora seja considerada como mecanismo protetor *in vitro* (HORTON e LEE, 1985). Além do mais, a recuperação da fotoinibição é dependente da temperatura (GREER *et al.*, 1986) e provavelmente requer síntese de proteína codificada pelo cloroplasto (GREER *et al.*, 1986; OHAD *et al.*, 1984). Entretanto, a desidratação mais severa não afeta somente a fase fotoquímica, mas também a de fixação de CO₂ e provavelmente a fotorrespiração (KAISER, 1987). A inibição parcial da fotorrespiração, pela deficiência hídrica, diminui a dissipação do excesso de energia absorvida, em forma de calor, e por isso aumenta a probabilidade de dano fotoinibitório ou fotooxidativo (POWLES, 1984).

A emissão de fluorescência das clorofilas dos sistemas fotossintéticos torna possível a realização de ensaios não destrutivos para examinar os eventos fotoquímicos da fotossíntese e pode ser usada, efetivamente, para monitorar as variações na atividade e organização *in vivo* do aparelho fotossintético, quando as plantas são expostas a estresse ambiente (BAKER *et al.*, 1983; CRITCHLEY e SMILLIE, 1981; GOVINDJEE *et al.*, 1981; ÖGREN e BAKER, 1985; ROBINSON *et al.*, 1983; SMILLIE e NOTT, 1982). O sinal típico de indução da fluorescência de cloroplastos *in vivo*, em luz contínua, é conhecido como fenômeno Kautsky (um decrescimo no rendimento da fluorescência seguido dos picos

P e M de emissão) (Figura 1). Normalmente, observa-se uma extinção polifásica, algumas vezes intercalada por um ou vários picos secundários, até que seja alcançado um nível estacionário final de fluorescência (T) (Figura 1) (KRAUSE e WEIS, 1991).

As cinéticas da fluorescência após o pico P (Figura 1) resultam das extinções fotoquímica e não-fotoquímica (EPRON e DREYER, 1990). A extinção fotoquímica depende da presença do acceptor primário de elétrons (Q_A) no estado oxidado e, por conseguinte, revela a proporção de excitons capturados e convertidos em energia química no centro de reação de PS II (BRADBURY e BAKER, 1984; KRAUSE e WEIS, 1991; KRAUSE *et al.*, 1982).

A extinção não-fotoquímica pode ser causada *in vivo*, sob condições fisiológicas, por três mecanismos principais: (1) extinção dependente de energia (q_E), causada pela acidificação intratilacóide, durante a translocação de prótons através da membrana, induzida pela luz; (2) extinção relacionada com a transição estado \dot{I} - estado II (q_T), regulada pela fosforilação do complexo coletor de luz de PS II (LHC II); (3) extinção fotoinibitória (q_I), relacionada com a fotoinibição da fotossíntese (KRAUSE e WEIS, 1991). A magnitude de q_E está relacionada linearmente com a concentração de H^+ intratilacóide (BRIANTAIS *et al.*, 1979; LAASCH, 1987). A fotoinibição de PS II parece ser intensificada no estado de Q_A reduzido (KRAUSE e WEIS, 1991). A desativação térmica alcançada em valores elevados de extinção dependente de energia aumenta provavelmente a fração de centros abertos presentes no estado estacionário

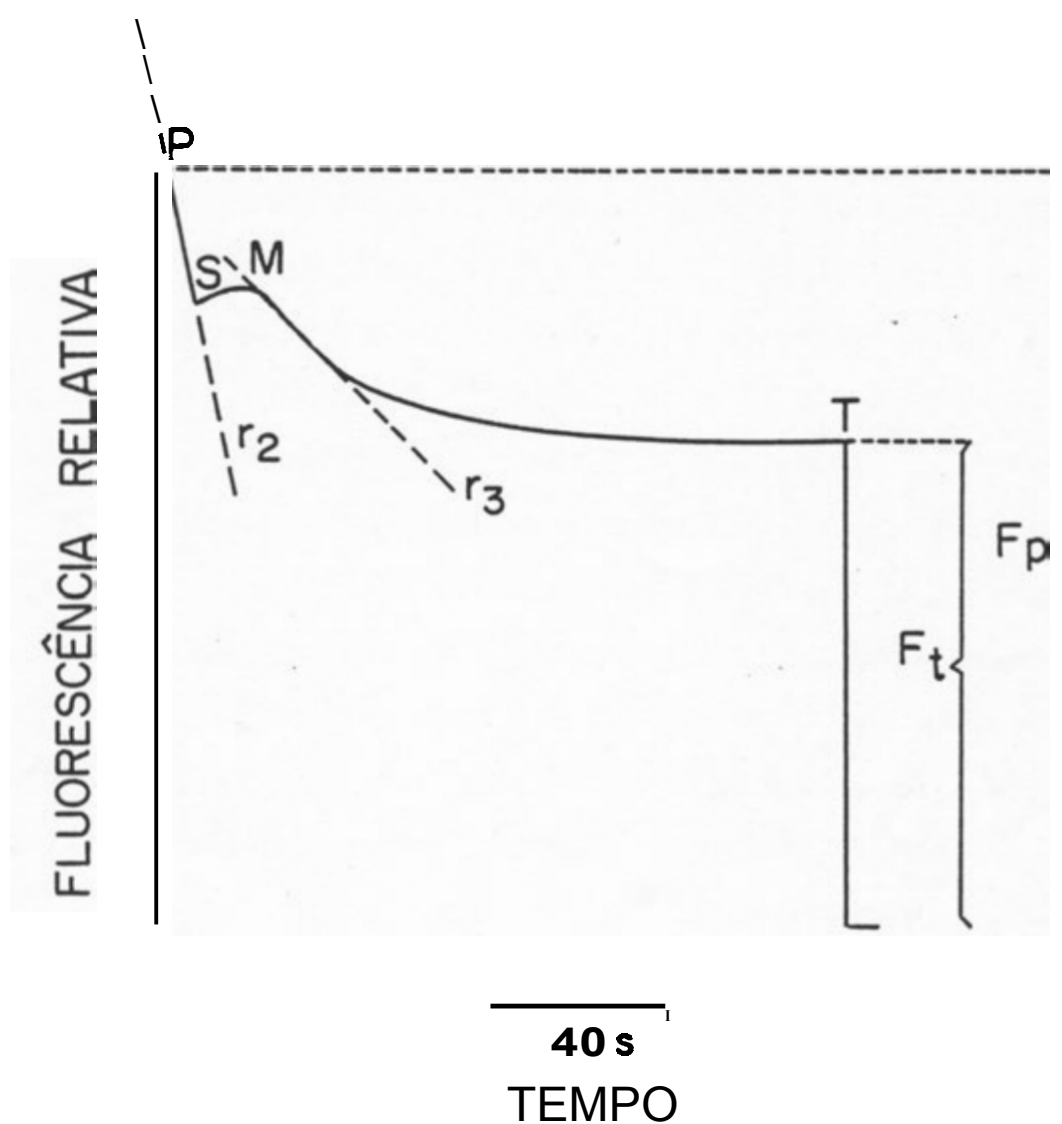


FIGURA 1 - Curva da Cinética de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila, Sendo P e T as Fluorescências Máxima (F_p) e Terminal (F_t), Respectivamente, r_2 a Taxa Máxima de Decréscimo da Fluorescência Após o Pico P, r_3 a Taxa Máxima de Decréscimo da Fluorescência Após o Pico M e S e M as Transições entre P e T

(WEIS e BERRY, 1987). Somente quando a densidade do fluxo de fótons sobrepuja a luz de saturação da assimilação de CO_2 fotossintético, é que Q_A se torna amplamente reduzido (KRAUSE e WEIS, 1991). Por conseguinte, o aumento de q_I , promovido por condições que limitam a utilização de energia no metabolismo do carbono ou processos de reparos, pode ser visto como um mecanismo protetor da dissipação de energia térmica, à medida que o efeito é revertido (KRAUSE e WEIS, 1991). Tem-se sugerido que o mecanismo de q_I , embora diminua a atividade fotossintética, previne a destruição grosseira do aparelho fotossintético (DEMMIG e BJÖRKMAN, 1987; KRAUSE, 1988; SOMERSALO e KRAUSE, 1990).

A atividade fotoquímica de PS II, na folha, é determinada pela capacidade da antena PS II em capturar a energia luminosa e pela eficiência com que a energia de excitação capturada é utilizada pelas reações fotoquímicas; conseqüentemente, variações no tamanho da antena e na eficiência quântica de PS II podem ter implicações na assimilação de CO_2 (BAKER, 1991). A extinção não-fotoquímica da fluorescência, dependente de ΔpH , não é controlada somente pelo ΔpH , mas há também uma forte influência de fatores externos que agem na atividade fotossintética dos cloroplastos (LAASCH, 1987). Embora o aumento do potencial eletroquímico de prótons, através das membranas dos tilacóides, possa aumentar a extinção não-fotoquímica e diminuir as taxas fotoquímicas de PS II (OXBOROUGH e HORTON, 1988; REES e HORTON, 1990), não há evidência de que a fotossíntese do tecido foliar no estado estacionário implique variações na energização do tilacóide,

como um determinante do processo de extinção não-fotoquímica e da taxa fotoquímica de PS II *in vivo* (BAKER, 1991). Parece plausível que o aumento da desativação térmica, refletido pela extinção dependente de energia, represente um mecanismo protetor que converte, em especial, o excesso de energia luminosa em calor, de uma forma não destrutiva (KRAUSE e BEHREND, 1986).

As modificações nas características de assimilação do carbono, induzidas por alterações no ambiente, são acompanhadas por variações relacionadas com a indução da fluorescência (IRELAND, *et al.*, 1984). Com a queda do potencial hídrico foliar há um decréscimo na emissão de fluorescência da clorofila (GOVINDJEE *et al.*, 1981). Tilacóides de cloroplastos isolados de folhas desidratadas apresentam um fluxo de elétrons, mediado por PS II, semelhante aos de folhas hidratadas, ao passo que há inibição do transporte de elétrons mediado pelo fotossistema I (PS I) (GENTY *et al.*, 1987). Em contrapartida, GOVINDJEE *et al.* (1981) verificaram que o estresse hídrico inibe a doação de elétrons ou a oxidação da Água do lado de PS II.

As variações nas características da fluorescência da clorofila a *in vivo* e as atividades dos fotossistemas I (PS I) e II (PS II) em cloroplastos isolados de folhas de *Borya nitida* desidratadas em atmosfera com 96% de umidade relativa, revelam que a perda de clorofila é acompanhada, inicialmente, por um estímulo na atividade de PS II e por um decréscimo gradual na transferência de elétrons mediada pelo PS I (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). No entanto, em estágio avançado de desenverdecimento, ambos os fotossistemas são

desativados e, em contrapartida, durante a reidratação e subsequente reenverdecimento, a atividade de PS II recupera-se rapidamente em relação à de PS I (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). Em células mesofílicas de *Xanthium strumarium*, a fotofosforilação é sensível à deficiência hídrica, mas o transporte de elétrons não é afetado por potenciais hídricos de até -4 MPa (SHARKEY e BADGER, 1982). A razão fluorescência máxima/mínima da clorofila a decresce durante o estresse hídrico e o inverso se verifica quando as plantas são reidratadas (GOVINDJEE *et al.*, 1981). Por outro lado, os parâmetros de fluorescência da clorofila a, e o rendimento quântico de evolução de O₂ ou a capacidade fotossintética, sob altas concentrações de CO₂, parecem insensíveis ao déficit hídrico moderado (CORNIC *et al.*, 1989; EPRON e DREYER, 1990, 1992; GRAAN e BOYER, 1990; KAISE, 1987; STUHLFAUTH *et al.*, 1988).

Sabe-se que a oxidação da molécula de Água, pelo complexo de evolução do oxigênio de PS II, determina a taxa de redução de Q_A, enquanto a reoxidação é uma função complexa que inclui a atividade de PS I, a geração fotoquímica de ATP e de NADPH + H⁺, as reações de assimilação de CO₂ e de varios mecanismos regulatórios ou dissipadores de energia (HEBER *et al.*, 1978; HORTON, 1983; STITT, 1986; CAEMMERER e FARQUHAR, 1981; WALKER, 1981). Entretanto., sob condições favoráveis para a fotossíntese, a dissipação de energia ocorre principalmente na clorofila do complexo antena, ao passo que, sob condições menos favoráveis, se desenvolve também um segundo processo dissipativo, provavelmente no ou ao redor do centro de

reação de PS II (ADAMS *et al.*, 1990). Quando a doação de elétrons do lado de oxidação da água é ligeiramente baixa, a energia de excitação, armazenada pelo PS II, pode ser dissipada por processos internos rápidos de recombinação de cargas (KRAUSE e WEIS, 1991). Como, durante o estresse hídrico severo, o acceptor primário de elétrons de PS II não se reduz completamente, parece que o O₂ pode desempenhar um papel de acceptor terminal a nível de PS II (BRADBURY *et al.*, 1985; CORNIC, *et al.*, 1989).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Vegetal e Condições de Cultivo

Neste trabalho, utilizaram-se mudas de café (*Coffea arabica* L.) dos híbridos H-421 [UFV 2143-236 EL 7 (Catuaí Amarelo - LCH 2077-2-5-30) x UFV 427-15 (Híbrido de Timor - CIFC 1343/136)] e H-430 [UFV 2145-113 EL 7 (Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-81) x UFV 442-108 (Híbrido de Timor - CIFC 2570)], da prole de Catimor, oriunda da mistura de sementes de vários descendentes de UFV - 1359, e da linhagem de Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-44.

As mudas foram obtidas a partir da germinação de sementes, tendo como substrato areia lavada, previamente tratada com brometo de metila (150 mL m^{-3}). Imediatamente após a semeadura, o conjunto foi tratado com Brassicol 0,2%. Posteriormente, a unidade foi mantida com irrigações periódicas. Após 60 dias, quando então as sementes estavam germinadas, as plantulas no estágio de "palito de fósforo"

foram transferidas para bolsas plásticas de 0,11 x 0,2 m, tendo como substrato uma mistura de solo e esterco de curral curado, na proporção de 3:1, e mantidas no viveiro. Cada m³ de substrato foi tratado, durante 48 horas, com 150 mL de brometo de metila, recebendo em seguida 5 kg de superfosfato simples, 0,5 kg de cloreto de potássio, 1,5 kg de calcário e 0,5 kg de gesso.

Sessenta dias após o transplante, foi fornecida às mudas uma solução nutritiva contendo cloreto de potássio 0,1%, salitre do Chile 0,2% e fosfato monoamônico 0,2%, aplicada ao solo. Ainda na mesma época, forneceu-se, via foliar, uma solução contendo sulfato de zinco 0,6%, ácido bórico 0,3% e Extravon 0,2% (A.B. RENA, comunicação pessoal).

As plantulas crescidas no viveiro, até 7 meses de idade, foram transferidas para uma casa de vegetação, onde foram mantidas e irrigadas regularmente, durante cerca de 1 mês. Uma semana antes do início das medições, as plantas foram conduzidas da casa de vegetação a uma sala de crescimento, onde foram controlados o fotoperíodo (12 h), a temperatura ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$), a umidade relativa do ar ($80 \pm 5\%$) e a densidade do fluxo de quantos ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fornecida por lâmpadas fluorescentes, na proporção de 1:1, tipos luz do dia e Gro-lux. Durante esse período, as plantas foram irrigadas diariamente com solução nutritiva de meia força, preparada segundo HOAGLAND e ARNON (1950). Em seguida, as plantas foram submetidas à défices hídricos crescentes, mediante a suspensão da irrigação. Quando as folhas atingiram potencial hídrico foliar de antemã de

aproximadamente $-4,5$ MPa, o solo foi irrigado novamente, completando assim um ciclo de déficit hídrico.

À medida que o ciclo de déficit hídrico progredia, eram estimados diariamente o potencial hídrico foliar de antemanhã (Ψ_{AM}), o teor relativo de Água (R'), a taxa fotossintética e a fluorescência transitória da clorofila.

3.2. Medição do Potencial Hídrico

O potencial hídrico de antemanhã foi determinado por meio de bomba de pressão (SCHOLANDER *et al.*, 1965) no segundo par foliar, completamente expandido, a partir do ápice do ramo ortotrópico.

3.3. Determinação do Teor Relativo de Água

Determinou-se o teor relativo de Água (R') na mesma folha em que se mediu o Ψ_{AM} . Para tal, a folha foi destacada da planta e imediatamente pesada para a obtenção do peso da matéria fresca atual (MFA). Em seguida, após a medição de Ψ_{AM} , colocou-se a folha em um dessecador, com seu pecíolo imerso em água, submetendo-se o sistema a vácuo por quinze minutos. Logo após, liberou-se o vácuo e a folha permaneceu por mais uma hora no sistema. Após a reidratação, enxugou-se a folha com papel toalha, tomando-se imediatamente o peso da matéria fresca da folha saturada (MFS). Em seguida, a folha foi seca em estufa de ventilação forçada, à temperatura de 70°C , até peso constante e posteriormente

pesada para a obtenção do peso da matéria seca (MS). Para o cálculo de R', utilizou-se a fórmula:

$$R' = (MFA - MS)/(MFS - MS) \times 100(\%).$$

3.4. Medição da Fluorescência

A cinética de indução da fluorescência da clorofila foi acompanhada com o uso de um fluorômetro Hansatech, acoplado a uma câmara foliar LD2, com fonte de luz de densidade de fluxo de quantos de $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pico de emissão em 660 nm e faixa do espectro entre 640–680 nm. Entre o disco foliar e o detector de fluorescência, foi colocado um filtro de interferência com banda de corte centrada em $740 \pm 10 \text{ nm}$, permitindo a passagem de parte do sinal da fluorescência, mas excluindo a luz actínica ou de excitação. Folhas, opostas aquelas utilizadas para se determinar ψ_{AM} , foram destacadas e colocadas em bolsas plásticas pretas por 30 minutos para que todos os centros de reação adquirissem a condição de "abertos" (extintor não-reduzido). Para a detecção do sinal, retirou-se da folha, no escuro, um disco foliar de 1000 mm^2 , que era colocado na câmara porta-amostra, com temperatura regulada a 35°C . Em seguida, forneceu-se luz actínica e o sinal foi enviado para um registrador potenciométrico, na velocidade de 100 mm min^{-1} , para caracterizar os pontos de fluorescência lenta. Nesta velocidade, foi possível detectar a fluorescência máxima (F_p) e a terminal (F_t). Obtidos os valores de F_p e F_t , foram calculados a razão F_p/F_t (SIFTEL

et al., 1988), o tempo necessário para atingir o nível $(F_p - F_t)/2$ ($t_{\frac{1}{2}}$), a razão de decréscimo da fluorescência ($R_{fd} = (F_p - F_t)/F_t$) (EPRON e DREYER, 1990), a capacidade de extinção ($F_q = (F_p - F_t)$) e as taxas máximas de decréscimo da fluorescência após os picos P (r_2) e M (r_3) (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982).

3.5. Determinação da Evolução de Oxigênio Fotossintético

A evolução do oxigênio fotossintético (fotossíntese potencial máxima) de cada disco foliar foi determinada com o uso de um eletrodo de Clark de fase gasosa (Hansatech), conectado à mesma câmara porta-amostra usada para medir a fluorescência. A medição da liberação de oxigênio foi feita no mesmo disco foliar usado para a detecção do sinal de fluorescência. As determinações foram realizadas também a 35°C, sob uma iluminação provida por lâmpada halogênio de 250W, dando uma densidade de fluxo luminoso de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medida com um fotômetro LI-COR LI - 1000 acoplado a um sensor quântico LI-COR, ao nível do disco foliar. As taxas de evolução do oxigênio foram obtidas de acordo com a metodologia descrita por DELIEU e WALKER (1983).

A temperatura ótima (35°C) para a fotossíntese potencial máxima, dos diversos genótipos de café, nas condições em estudo, foi obtida por meio de ensaios preliminares, variando-se as temperaturas de 20 a 40°C.

As curvas de resposta da fotossíntese potencial à densidade do fluxo luminoso foram obtidas distanciando-se o

sistema de medição de evolução do oxigênio da fonte de luz e medindo-se a radiação fotossinteticamente ativa com o mesmo fotômetro mencionado, permitindo, assim, uma variação de 50 a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ao nível do disco foliar. Os valores da taxa fotossintética líquida potencial foram ajustados segundo o modelo:

$$P_n = P_{\text{max}} [1 - e^{-(\alpha I/P_{\text{max}})}]$$

Em que: P_n é a taxa fotossintética líquida potencial; I é a densidade de fluxo luminoso; α é a declividade inicial da curva $P_n \times I$ e P_{max} é o valor assintótico de P_n quando I tende ao infinito (THORNLEY, 1976).

3.6. Delineamento Experimental

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Fez-se a análise de variância e, em razão da discrepância entre os quadrados medios residuais da progenie de Catimor e dos outros genótipos, optou-se pela análise isolada do grupo que reuniu os híbridos H-430 e H-421 e a linhagem de Catuaí (GOMES, 1990). As medias dos genótipos foram comparadas pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. Adicionalmente, foram feitos estudos de correlações de Pearson e de regressões entre os parametros avaliados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Evolução de Oxigênio

4.1.1. Resposta da Fotossíntese à Luz

Analisando-se as curvas de resposta da fotossíntese à densidade do fluxo luminoso (Figura 2), verifica-se que houve diferença, entre os diversos genótipos, na magnitude da taxa fotossintética potencial máxima (P_{max}) e no rendimento quântico (ϕ) (Quadro 1). O Catimor apresentou maior valor de P_{max} , ao contrário do híbrido H-421, cujo valor foi inferior ao do Catuaí e ao do híbrido H-430. O mesmo fato não se verificou com relação a ϕ . O Catimor e o H-430 apresentaram os maiores valores de ϕ e não se diferiram estatisticamente entre si. No entanto, entre os demais genótipos, o Catuaí foi o que mostrou o menor valor de ϕ (Quadro 1).

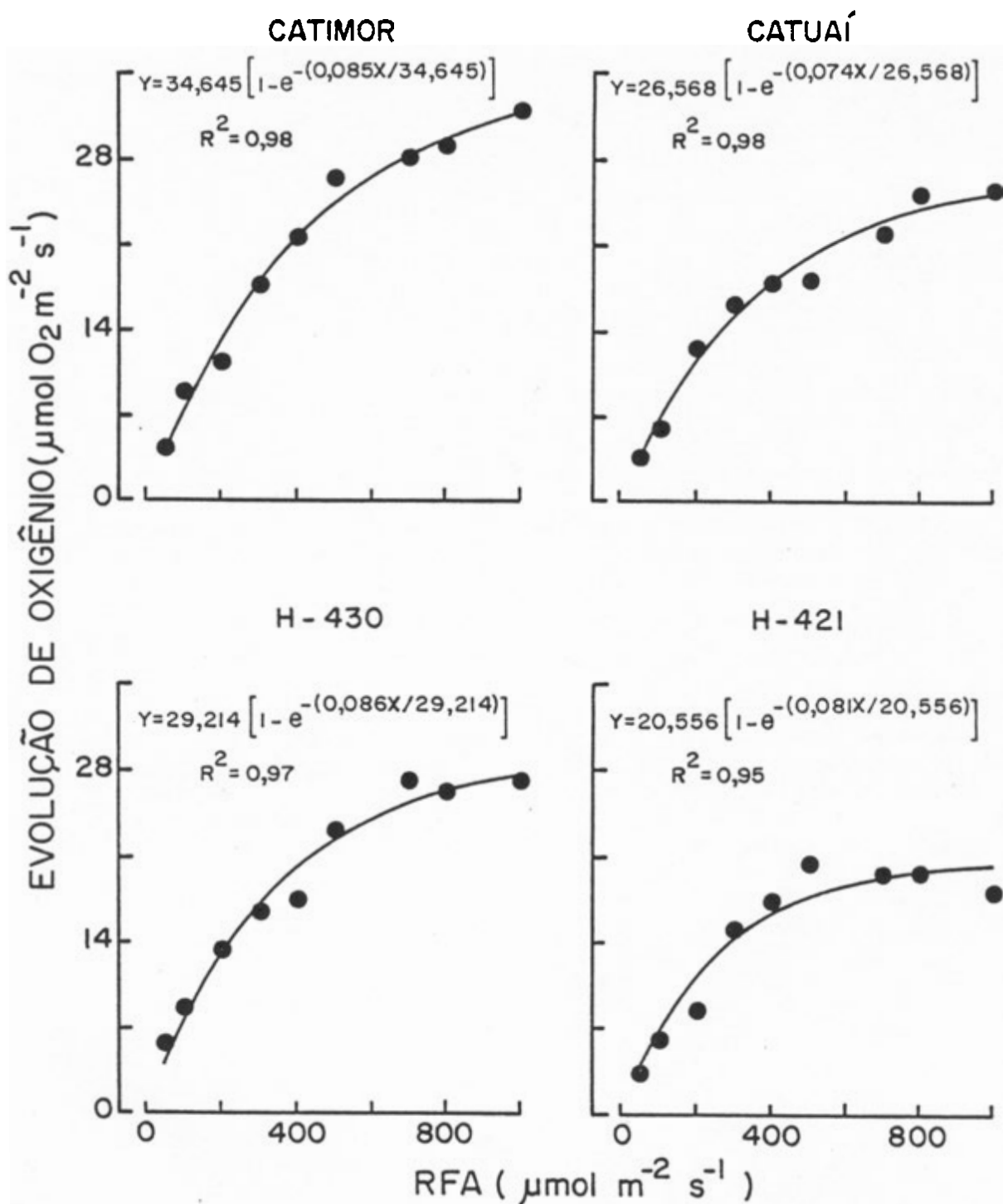


FIGURA 2 - Curvas de Resposta da Fotossíntese à Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA) em Café. O Símbolo Representa o Valor Médio de Quatro Repetições

QUADRO 1 - Valor Assintótico de Evolução de Oxigênio Fotossintético, Quando a Densidade de Fluxo Luminoso Tende ao Infinito (P_{max}) e Rendimento Quântico (ϕ), em Quatro Genótipos de Cafe

Genótipos	P_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	ϕ ($\text{O}_2 \text{ fóton}^{-1}$)
Catimor	34,65 A	0,085 A
Catuaí	26,57 B	0,074 B
H-430	29,21 B	0,086 A
H-421	20,56 C	0,081 AB

* As medias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

O rendimento **quântico** da fotossíntese é definido como sendo a quantidade molar de O_2 evoluído ou de CO_2 absorvido por mol de **fótons** absorvidos pelo aparelho **fotossintético**. Em baixas densidades de fluxo de **fótons**, onde a taxa **fotossintética** é diretamente proporcional a **irradiância**, o valor de ϕ é constante e **máximo**, e, por conseguinte, é utilizado como medida da eficiência de conversão de luz em produtos **fotossintéticos estáveis** (BJÖRKMAN e DEMMIG, 1987). Em **café**, YAMAGUCHI e FRIEND (1979) **demonstraram** que os valores de ϕ **são** relativamente constantes durante os estádios de desenvolvimento da folha, e que não diferem **significativaemnte** em folhas crescidas a 25 e a 100% da luz solar total incidente. Fato este **também** observado por NUNES (1988) em folhas de **café**, desenvolvidas a pleno sol e a sombra.

BJÖRKMAN e DEMMIG (1987) determinaram os valores de ϕ , em condições de CO_2 saturante e a **25°C**, de 44 espécies de plantas **vasculares**, das quais 37 eram do tipo C_3 . Esses autores verificaram que o valor medio de ϕ para as diversas espécies C_3 foi de $0,106 \pm 0,001 O_2 \text{ foton}^{-1}$, o que corresponde a cerca de **84,8%** do valor **teórico**, supondo-se que **8 fótons** são requeridos para a produção de uma **molécula** de O_2 , proveniente da oxidação de duas **moléculas** de H_2O . Neste estudo os valores de ϕ foram de **68,8, 68,0, 64,8 e 59,2%** do 'valor teórico para os **genótipos** H-430, Catimor, H-421 e Catuaí, respectivamente.

Nas condições experimentais, de temperatura elevada (**35°C**) e de luz e CO_2 saturantes, há uma repressão da **fotorrespiração** (DI MARCO *et al.*, 1988). Neste caso, as

variações de ϕ de plantas do tipo C3 são devidas às alterações na inibição por O₂ (EHLERINGER e BJÖRKMAN, 1977). Sabe-se que há um aumento na inibição por O₂ com a elevação da temperatura, em altas densidades de radiação luminosa (JOLLIFFE e TREGUNNA, 1968, 1973). A uma temperatura foliar de 30°C, o valor de ϕ das espécies C3 é consistentemente cerca de 39% superior ao das espécies C₄, sob baixa disponibilidade de O₂ (EHLERINGER e BJÖRKMAN, 1977). Com a elevação da temperatura da folha de plantas C₃, aumenta-se a densidade do fluxo de luz necessária para saturar a fotossíntese (BERRY e BJÖRKMAN, 1984). Além disso, uma folha fotossintetizando em condições de luz e de CO₂ saturantes pode apresentar uma capacidade excessiva de transporte de elétrons, a qual não é utilizada, uma vez que as reações do metabolismo do carbono restringem a taxa de fotossíntese (STITT, 1986). Nestas condições, há também capacidade em excesso para a rotatividade do ciclo de Calvin e a limitação reside na capacidade de troca de fósforo inorgânico e de triose fosfato, durante a síntese de sacarose no citosol (STITT, 1986). Entretanto, estudos de dispersão de luz, em folhas de espinafre e de outras espécies, mostram que o transporte de elétrons pode não desempenhar um papel direto na limitação da fotossíntese, quando o gradiente de pH transtilaçooidal permanece elevado, durante a fotossíntese, em condições de luz e de CO₂ saturantes (DIETZ *et al.*, 1984). Desta forma, é provável que, nas condições experimentais deste estudo, a progênie de Catimor tenha um metabolismo do carbono e uma capacidade de

troca de fósforo inorgânico e de triose fosfato mais eficientes, em relação aos demais genótipos.

Quando as folhas recebem luz em excesso, que não pode ser dissipada pelos processos fotoquímico e não-fotoquímico associados com a fotossíntese, ocorre um dano no centro de reação de PS II (CRITCHLEY, 1988; KRAUSE, 1988). Neste caso, há, na realidade, uma fotoinibição, manifestada pela diminuição de ϕ e da capacidade de folhas intactas fotossintetizarem em condições de luz saturante, pela atividade menor do transporte de elétrons e pela alteração das características da fluorescência da clorofila (DEMMIG e BJÖRKMAN, 1987). Além disso, a alcalinização do estroma é afetada por condições fotoinibidoras, o que ocasiona um decréscimo da ativação pela luz de enzimas do ciclo de redução do carbono (GIERSCH e ROBINSON 1987). Por outro lado, há evidência de que o processo de dissipação, associado à zeaxantina, impede a inativação das reações fotoquímicas, mantidas durante o excesso de luz (DEMMIG *et al.*, 1987; ADAMS *et al.*, 1990). Além do mais, em condições de luz e de CO₂ saturantes, a assimilação de CO₂ é limitada pela capacidade de regeneração da ribulose - 1,5 - bisfosfato, determinada pelo transporte de elétrons e associada aos processos de fosforilação (DI MARCO *et al.*, 1988; FARQUHAR *et al.*, 1980; CAEMMERER e FARQUHAR, 1981).

Apesar de as mudas de café terem sido mantidas durante uma semana em sala de crescimento, sob baixa densidade de fluxo luminoso, antes de iniciarem-se as medições de fotossíntese; é provável que o baixo rendimento

quântico, alcançado pela linhagem de Catuaí, não se deve à fotoinibição. Esse genótipo, juntamente com os demais, não apresentou dano no centro de reação de PS 11, evidenciado pelas características da fluorescência da clorofila a, em estudos que serão relatados posteriormente.

4.1.2. Fotossíntese Sob Déficit Hídrico

Sob luz saturante e à temperatura ótima, a deficiência hídrica provocou diminuição na evolução do oxigênio fotossintético em plantas de café. Observou-se, de maneira geral, que a fotossíntese não sofreu reduções significativas até potenciais hídricos de antemanhã (Ψ_{AM}) de aproximadamente $-1,0$ MPa, para os híbridos H-430 e H-421 e para a progênie de Catimor, mas para a linhagem de Catuaí, a redução ocorreu a $-0,8$ MPa (Figura 3). A partir daí, a evolução do oxigênio decresceu rapidamente até um Ψ_{AM} de aproximadamente $-2,0$ MPa, atingindo valores mínimos a $-4,0$ MPa. As taxas fotossintéticas potenciais máximas, em Ψ_{AM} elevados, atingiram valores em torno de $30 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para a progênie de Catimor, de $35 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para a linhagem de Catuaí e para o híbrido H-430, e de $25 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o híbrido 421 (Figura 3). Houve nos diversos genótipos, uma variação relativamente grande na evolução do oxigênio fotossintético, em Ψ_{AM} até $-1,0$ MPa.

As quedas observadas na fotossíntese (Figura 3) podem ser atribuídas ao aumento da resistência mesofílica, uma vez que sob condições saturantes de luz e de CO_2 , a resistência estomática ao fluxo de gás é eliminada (DELIEU e WALKER,

1981; JONES e OSMOND, 1973; KAISER *et al.*, 1981). Assim, essas diminuições decorrem aparentemente do efeito direto da desidratação no aparelho fotossintético a nível de mesófilo. Esses resultados sugerem que a deficiência hídrica não só limita a fotossíntese por induzir o fechamento estomático (BOYER, 1970a; TURNER e BEGG, 1981), mas também por efeito direto no mecanismo fotossintético (BERKOWITZ e GIBES, 1981, 1982, 1983a; BOYER, 1971a,b; BUNCE, 1977; HSIAO, 1973; KAISER, 1982; KAISER *et al.*, 1981; KAISER e HEBER, 1981). Atribui-se o efeito da deficiência hídrica na fotossíntese à inibição do transporte de elétrons (BOYER, 1971a; BOYER e BOWEN, 1970; KECK e BOYER, 1974) e a conseqüente acidificação do estroma (BERKOWITZ *et al.*, 1983; BERKOWITZ e GIBES, 1983b), à interferência no ciclo de redução do carbono (PLAUT, 1971; PLAUT e BRAVDO, 1973), à redução do volume do cloroplasto (BERKOWITZ e GIBES, 1983a; KAISER, 1982; ROBINSON, 1985), e à reduzida capacidade de regeneração da ribulose - 1,5 - bisfosfato (DI MARCO *et al.*, 1988; SHARKEY e BADGER, 1982). Além disso, sabe-se que a acidificação do estroma, provocada pela desidratação, pode contribuir para a inibição de enzimas (CHAVES, 1991). As variações observadas nas propriedades da Rubisco, em folhas de diferentes espécies desidratadas lentamente, incluem, além da redução na ativação e na atividade total, uma diminuição na concentração da enzima (VU *et al.*, 1987; VU e YELENOSKY, 1988).

A grande variação na taxa fotossintética, observada nos diversos genótipos de café com Ψ_{AM} até $-1,0$ MPa (Figura 3) provavelmente se deve à heterogeneidade genética

intra e interespecífica, pois a perda de turgescência para os varios genótipos se verificou em Ψ_{AM} a partir de -1,0 MPa (Figura 4).

A redução do teor relativo de Água (R') foi menos acentuada no híbrido H-430, em relação aos demais genótipos (Figura 4). O decrescimo no potencial hídrico do tecido, por uma dada variação de R' é naturalmente muito diferente em varias especies de plantas, dependendo da osmolalidade inicial do suco celular e da elasticidade da parede celular (KAISER, 1987). Por outro lado, a manutenção da turgescência foliar tem sido freqüentemente atribuída ao ajustamento osmótico (JONES e TURNER, 1978; PAVLIK, 1984; RITCHIE e SHULA, 1984; TURNER, 1986). No cafe, a turgescência conserva-se em níveis elevados, mesmo a Ψ_W consideravelmente baixo (JOSIS *et al.*, 1983), de modo que as folhas mantem um alto valor de R' (AKUNDA e KUMAR, 1981; GROSS e PHAM-NGUYEN, 1987; NUNES, 1974, 1976; NUNES e DUARTE, 1969). Por conseguinte, supõem-se que, em folhas desidratadas de cafe, há uma associação entre atividade fotossintética e a manutenção do volume do protoplasto via ajustamentos osmótico e elástico (MEINZER *et al.*, 1990). Desta forma, as alterações no protoplasto, induzidas pela deficiencia hidrica, e, portanto, a relação volume do cloroplasto e potencial hídrico foliar, podem servir para a manutenção da atividade fotossintética durante o estresse hídrico (SEN GUPTA e BERKOWITZ, 1987). Entretanto, não há evidencia de comportamento diferencial, entre genótipos de cafe, baseado na modificação da relação volume do protoplasto/potencial

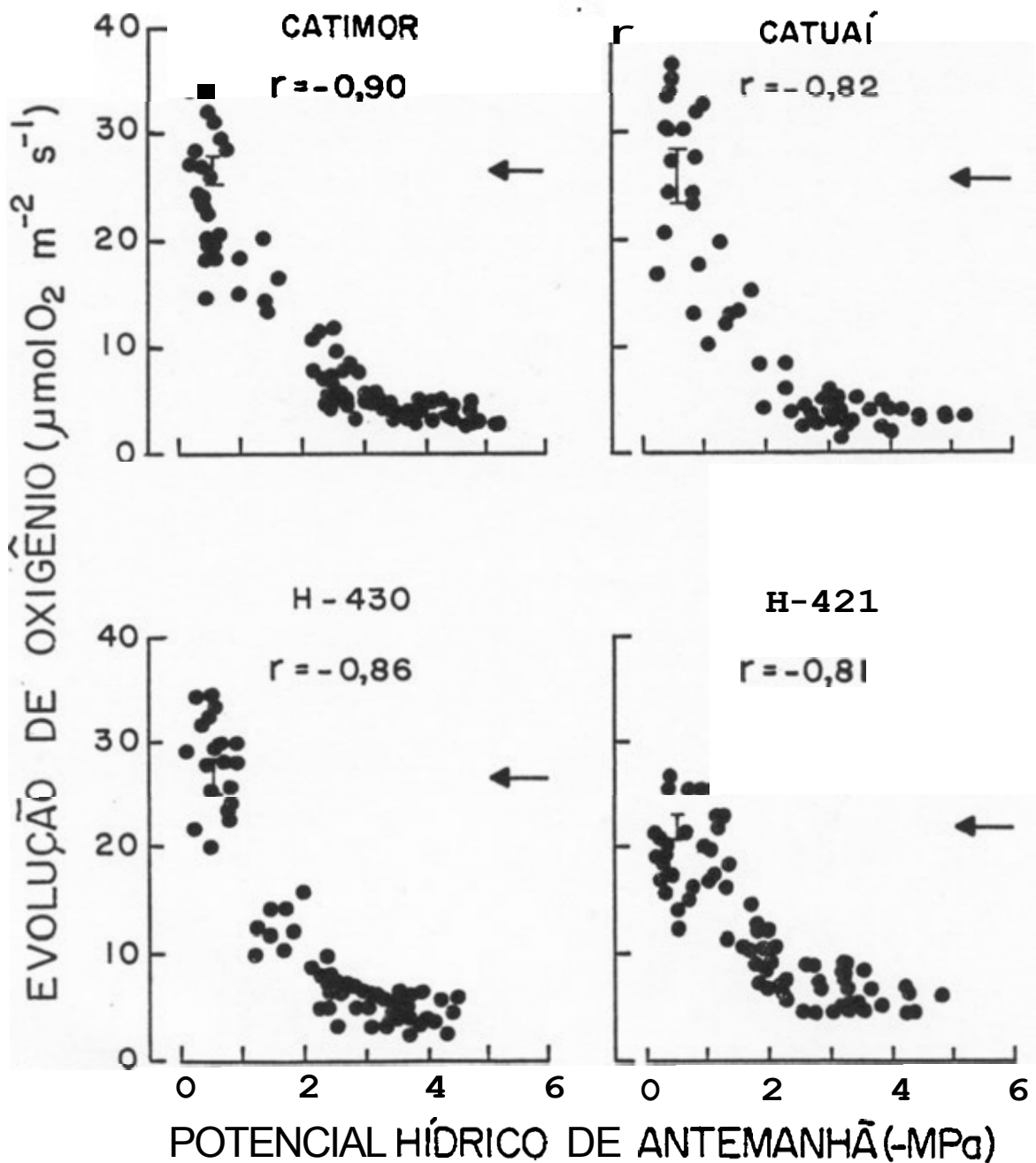


FIGURA 3 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Taxas de Fotossíntese de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

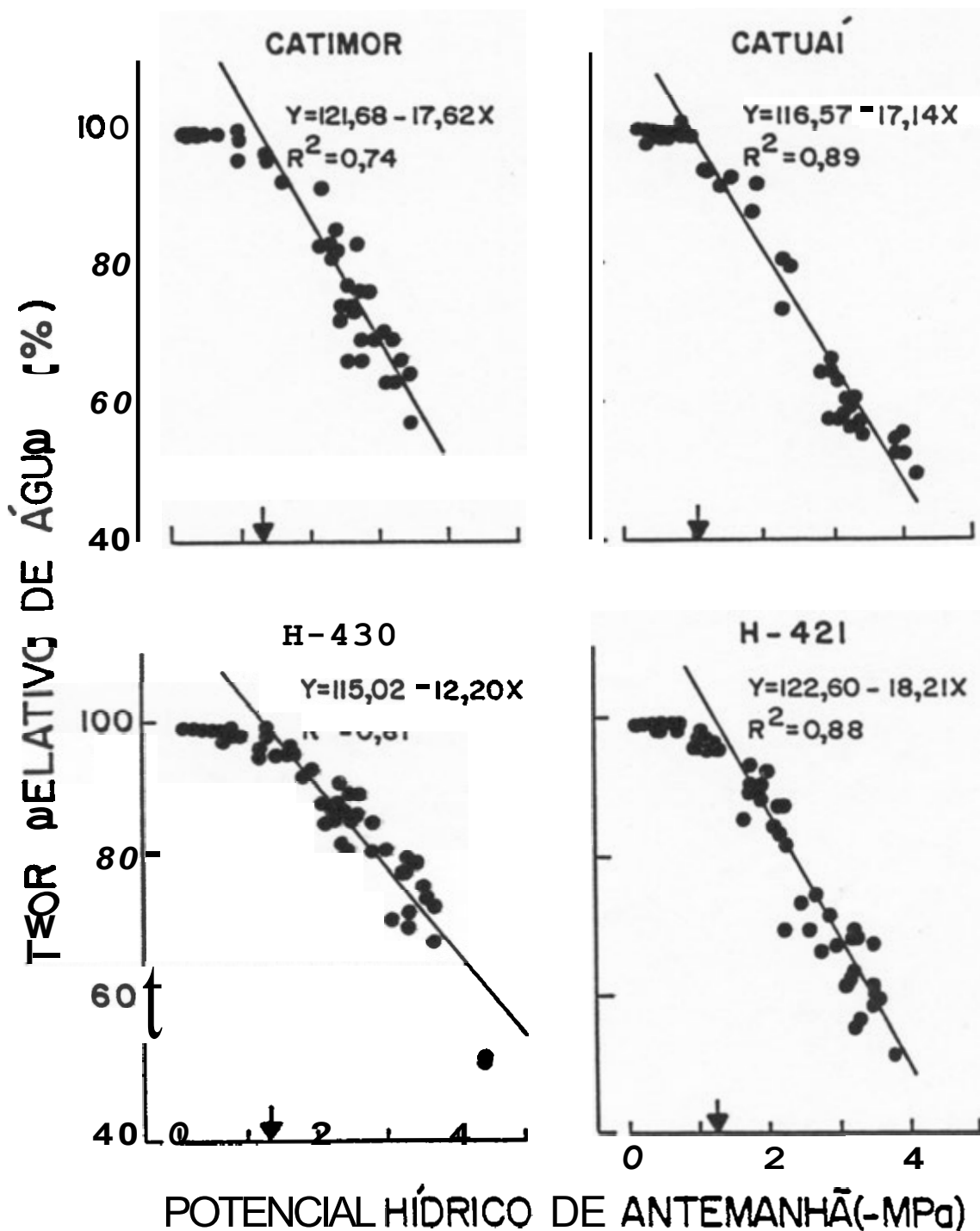


FIGURA 4 - Efeito da Deficiência Hídrica nos Teores Relativos de Água de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta Indica Aproximadamente o Início de Perda de Turgescência

hídrico foliar via ajustamento osmótico e elástico (MEINZER *et al.*, 1990).

Para os diversos genótipos, de maneira geral, o decrescimo na evolução do oxigênio fotossintético se iniciou em R' de 95%, atingindo valores mínimos em torno de 50% para o híbrido H-421, para a progênie de Catimor e para a linhagem de Catuaí e de 65% para o híbrido H-430 (Figuras 3 e 4). Alguns autores afirmam que a fotossíntese foliar, sob condições de deficit hídrico, e de CO₂ e luz saturantes, é afetada somente em deficiência hídrica muito baixa (GRAZIANI e LIVNE, 1971; KAISER, 1982), correspondente a R' entre 50 à 70% (KAISER, 1987; ROBINSON *et al.*, 1988; CORNIC *et al.*, 1989). Entretanto, em algumas espécies de plantas, especialmente quando a desidratação é imposta lentamente, podem ocorrer variações na fotossíntese do mesófilo, em R' bem acima de 70% (CHAVES, 1991). Sabe-se que as plantas com concentrações elevadas de K⁺ são capazes de em grande parte manter a fotossíntese em baixos potenciais hídricos, por causa principalmente da manutenção de altos valores de R' (SANTAKUMARI e BERKOWITZ, 1990). A alteração das relações osmóticas de células foliares de trigo, pelo aumento da concentração de K⁺ citoplasmático ou vacuolar, pode modificar substancialmente a relação entre R' e o ψ_w *in situ* (SEN GUPTA *et al.*, 1989). Embora as variações osmóticas modifiquem a relação turgescência/potencial hídrico foliar, as folhas desidratadas de café estão muitas vezes funcionando e exibindo trocas de gás consideráveis em turgescência baixa ou zero (MEINZER *et al.*, 1990). Provavelmente, houve acúmulo de solutos, nos diversos

genótipos estudados, durante o processo de desidratação, o que contribuiu para a manutenção de altos valores de R' em baixos Ψ_{AM} (DA MATTA, 1991). Além disso, supõe-se que o híbrido H-430 apresente mecanismos mais eficientes de ajustamento osmótico, em relação aos demais genótipos.

Os genótipos de café recuperaram plenamente sua capacidade fotossintética 96 horas após a reidratação, à exceção da linhagem de Catuaí, cuja recuperação se verificou 48 horas após o período de reidratação (Quadro 2; Figura 5). Além do mais, o tempo de reabilitação da capacidade de evolução de O_2 não coincidiu com o de recuperação da fluorescência, durante o período de reidratação, dos diversos genótipos (Figuras 17, 18, 19 e 20). O restabelecimento da fluorescência antecedeu o da fotossíntese. Provavelmente a deficiência hídrica tenha afetado outros processos, além do transporte fotossintético de elétrons e da fotofosforilação oxidativa, o que acarretou um tempo maior de recuperação da capacidade de evolução do oxigênio.

De acordo com CAEMMERER e FARQUHAR (1981) e FARQUHAR e SHARKEY (1982), a diminuição da assimilação líquida de CO_2 , provocada pelo aumento do estresse hídrico, pode significar um decréscimo na taxa de regeneração da ribulose - 1,5 - bisfosfato, em consequência da queda da fotofosforilação, associada ao transporte de elétrons. Alguns estudos com cloroplastos em suspensão ou extratos enzimáticos mostram queda nos processos fotoquímicos (BOYER, 1976) e na atividade da Rubisco (VU *et al.*, 1987), em condições de déficit hídrico. Outras evidências indiretas

QUADRO 2 - Fotossíntese Potencial Máxima (FS) em Três Genótipos de Café Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	FS ($\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	4,70 A	5,28 A	5,00 A
3 h	4,55 A	6,28 A	5,73 A
6 h	6,40 B	5,58 B	9,18 A
12 h	10,70 A	11,80 A	8,60 B
24 h	12,90 B	16,68 A	12,08 B
48 h	24,30 A	18,63 B	16,55 C
96 h	23,90 AB	25,18 A	22,38 B

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

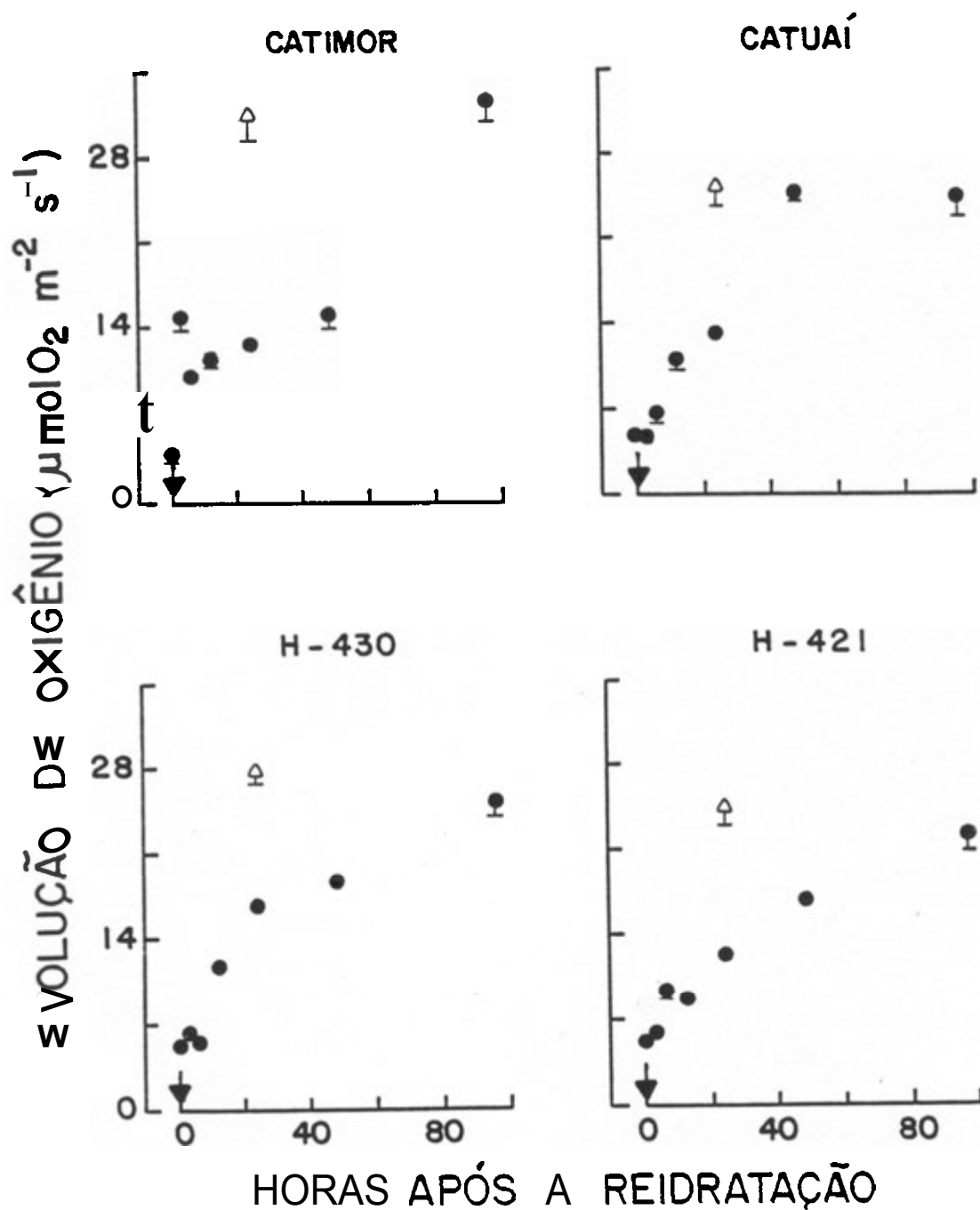


FIGURA 5 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação da Evolução do Oxigênio Fotossintético de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

mostram ainda que pode ocorrer inibição da atividade de enzimas cloroplastídicas, sob desidratação, manifestada pelo aumento da razão triose-fosfato/ribulose -1,5 - bisfosfato, indicando que a fase regenerativa do ciclo de Calvin é afetada (QUICK *et al.*, 1989). KAISER (1982) sugere que o aumento da concentração de soluto intracelular, em resposta ao decréscimo do volume do protoplasto, resultante da diminuição do potencial osmótico, provoca inibição de atividades enzimáticas necessárias para a fixação de CO₂. Entretanto, BERKOWITZ e GIBES (1983b) mostraram que a inibição da rotatividade do ciclo de Calvin, em cloroplastos isolados, se deve à acidificação do estroma, durante o estresse osmótico. Além disso, a condição de estresse hídrico induz, em folhas desidratadas, um decréscimo severo no teor de amido e simultaneamente um acúmulo de açúcares solúveis (TURNER *et al.*, 1978). Supõem-se que o estresse hídrico inibe a translocação de fotoassimilados (JOHNSON e MOSS, 1976; MCPHERSON e BOYER, 1977), e que o acúmulo desses possa afetar a fotossíntese (THORNE e KOLLER, 1974).

4.2. Características de Emissão de Fluorescência

4.2.1. Ciclo de Desidratação

Analisando-se a cinética de indução da fluorescência lenta, durante a desidratação das plantas dos diversos genótipos de café, verificou-se que, de uma maneira geral, não houve mudanças nos valores de F_p , mas em contrapartida houve uma tendência de aumento nos de F_t (Figuras 6 e 7). A

partir de $-2,0$ MPa a amplitude do pico **M** foi-se reduzindo até quase desaparecimento em $-4,0$ MPa (Figuras 6 e 7). Além disso, as taxas máximas de decréscimo da fluorescência após os picos **P** (r_2) e **M** (r_3) também caíram gradualmente (Figuras 6 e 7).

A transição **PS** da curva de indução da fluorescência resulta do aumento no gradiente transtilacoidal de prótons (ΔpH) (SIVAK e WALKER, 1985). Com a aceleração do consumo de ATP, durante a indução, há um descarregamento do gradiente de prótons, elevando-se a intensidade da fluorescência de **S** para **M** (SIFTEL *et al.*, 1988). Em um ponto correspondente ao início da transição **SM**, inicia-se, após uma fase latente, a assimilação líquida de CO_2 (WALKER, 1981; IRELAND *et al.*, 1984). A assimilação do carbono acarreta um aumento no fluxo acíclico de elétrons e conseqüentemente um incremento na extinção fotoquímica, com uma diminuição da emissão da fluorescência de **M** a **T** (IRELAND *et al.*, 1984).

A invariabilidade da fluorescência máxima, durante o estresse hídrico, demonstra que a distribuição de energia dentro do complexo coletor de luz e a clorofila de **PS II** estão totalmente intactos e que a capacidade de absorção de luz de todas as clorofilas, inclusive dos centros de reação, permanece constante (STUHLFAUTH *et al.*, 1988). Níveis moderadamente elevados de **P**, acompanhados por valores elevados de **M**, refletem a ausência de efeitos de estresse na oxidação da água e na assimilação de CO_2 (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). O decréscimo ou ausência do segundo pico **M**

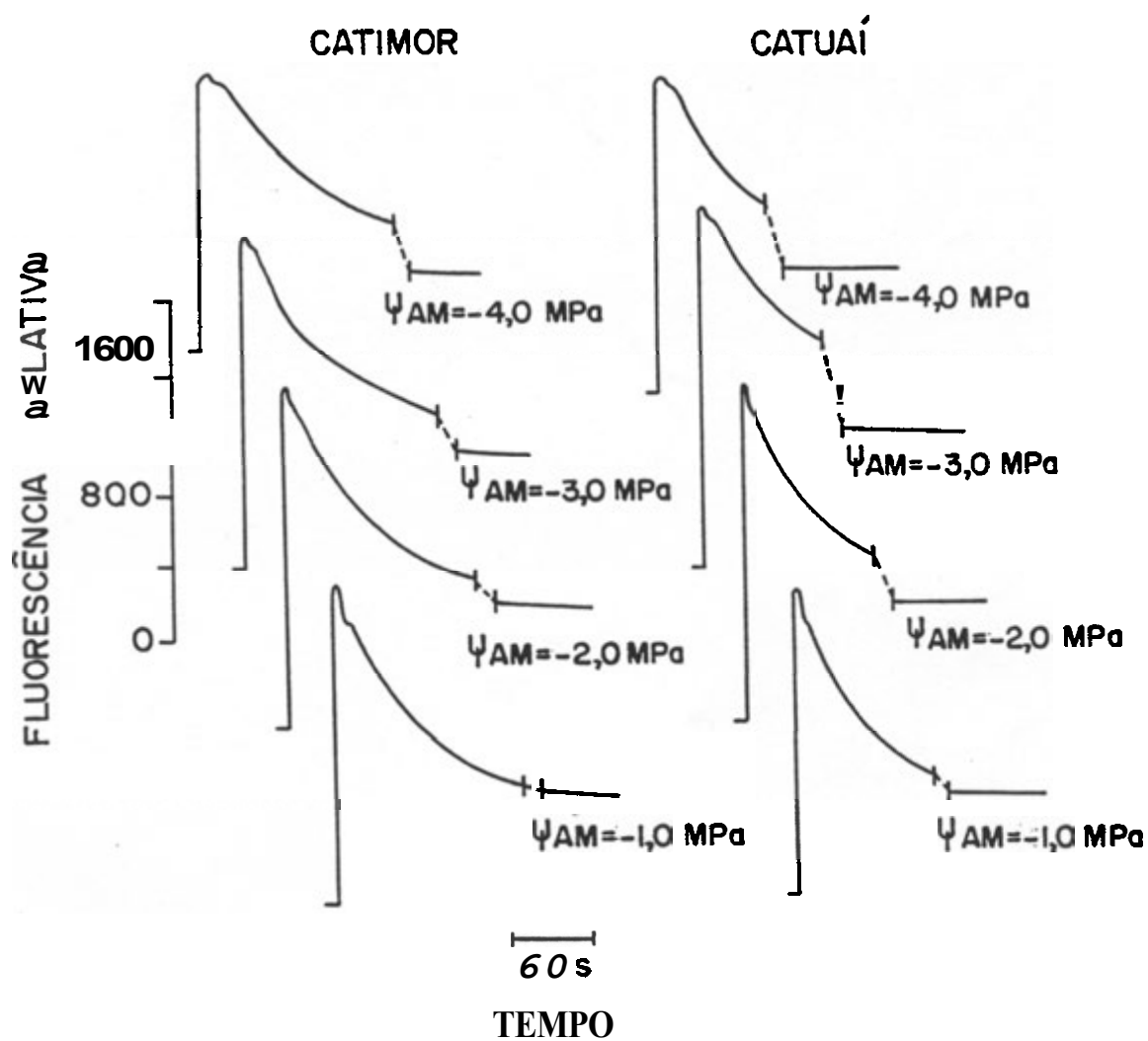


FIGURA 6 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas de Café

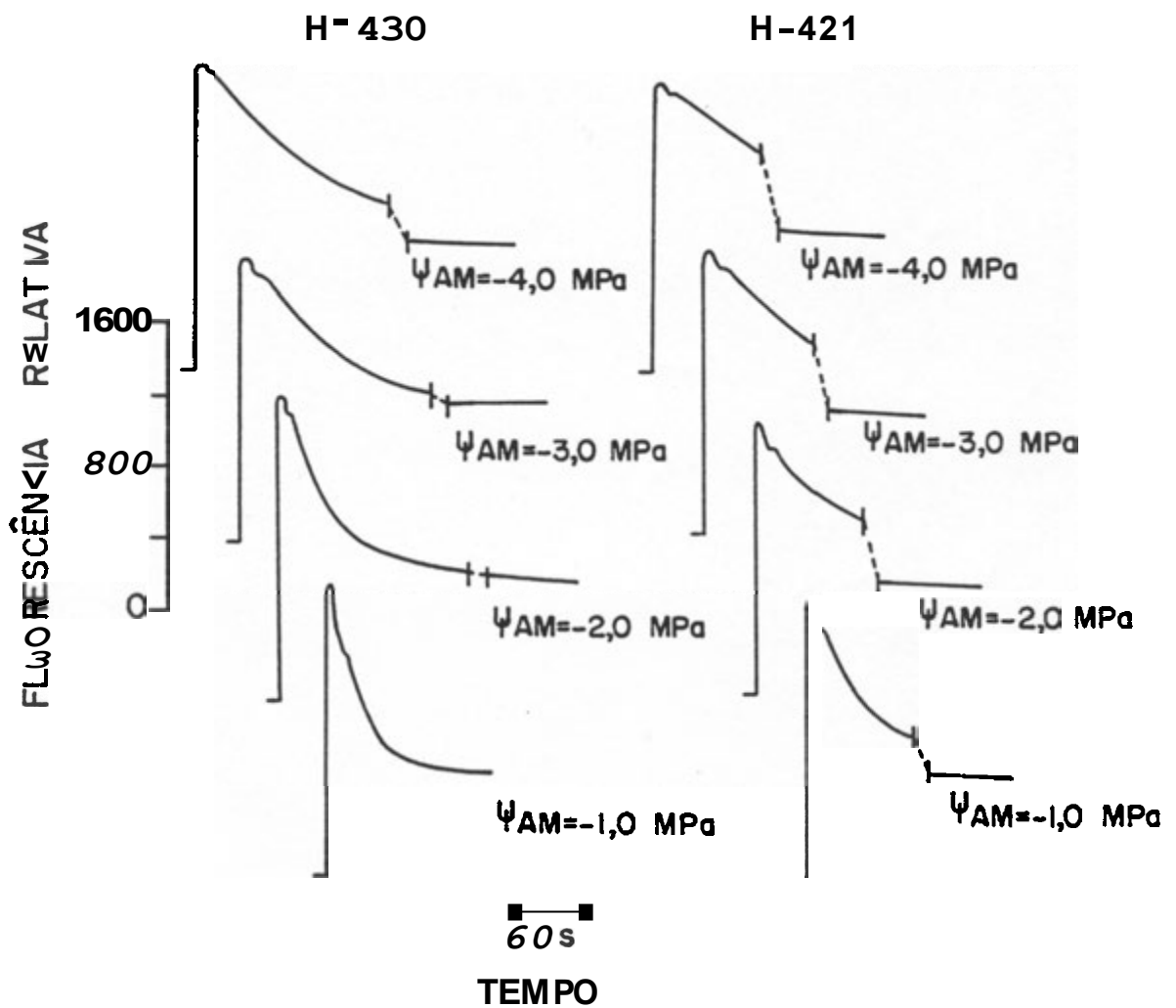


FIGURA 7 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas de Cafe

indica, de acordo com a hipótese de SIVAK e WALKER (1985), que houve uma descarga muito lenta do gradiente transtilacoidal de prótons para a produção de ATP a partir de ADP e, por conseguinte, um baixo consumo de ATP, induzido por uma lenta velocidade das reações do ciclo de Calvin (SIFFEL *et al.*, 1988). Isto corresponde a uma pequena utilização de energia radiante absorvida, revelada pelo baixo valor da razão F_p/F_t (SIFFEL *et al.*, 1988). O decréscimo do tempo gasto para atingir o pico M está relacionado com a diminuição da elasticidade das membranas dos tilacóides e, por conseguinte, com a redução do espaço intratilacoidal, o que aumenta, por vez, a velocidade de formação do gradiente de prótons e acelera o início das reações subseqüentes (SIFFEL *et al.*, 1988). A lentidão do decréscimo da fluorescência, provocada pela desidratação, está relacionada com o aumento do tempo levado para atingir F_t e com a diminuição das taxas máximas de decrescimento da fluorescência após os picos P (r_2) e M (r_3). Esse decrescimento de r_2 e de r_3 está associado, por sua vez, com o desenvolvimento de um bloqueio na transferência de elétrons que ocorre entre os fotossistemas II e I, durante a desidratação da folha (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982).

Variações estruturais de folhas desidratadas podem também afetar o rendimento da fluorescência (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). Durante a desidratação, os espaços aéreos do mesófilo esponjoso aumentam e novos espaços intercelulares aparecem na camada palissádica de células de folhas de *Borya nitida* (HETHERINGTON *et al.*, 1982). Entretanto, RÜHLE e WILD (1979) verificaram que a intensificação da absorvância

de pigmentos nas folhas, que resulta portanto em diminuição na fluorescência, está mais bem correlacionada com o teor de pigmentos em relação a características físicas, tal como a espessura da folha.

Praticamente não houve variação na fluorescência máxima (F_p), durante a desidratação das plantas dos diversos genótipos de café (Figura 8), como visto anteriormente nas Figuras 6 e 7. O mesmo fato aconteceu em relação à fluorescência terminal (F_t) (Figura 9) e, conseqüentemente, em relação à razão fluorescência máxima/fluorescência terminal (F_p/F_t) (Figura 10), exceto para o híbrido H-421 (Figuras 9 e 10). Nesse observou-se uma tendência de aumento nos valores de F_t e, por conseguinte, de redução nos de F_p/F_t , a partir de $-2,0$ MPa.

Vários autores já verificaram que a elevação inicial do pico P da fluorescência não é influenciada pela deficiência hídrica (DI MARCO *et al.*, 1988; GENTY *et al.*, 1987; ÖGREN e ÖQUIST, 1985; TOIVONEN e VIDAVER, 1988), indicando que as reações fotoquímicas do fotossistema II (PS II) são bastante resistentes ao estresse hídrico foliar (EPRON e DREYER, 1990). O nível F_p da curva de indução da fluorescência mostra que o aceptor primário de elétrons de PS II (Q_A) está totalmente reduzido, revelando um consumo mínimo, na fotossíntese, da energia radiante absorvida (SIFTEL *et al.*, 1988). A fluorescência máxima é governada pela taxa de oxidação da molécula de Água e pela extinção potencial do fotossistema I (PS I) (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Variações em F_p podem ser induzidas pelo decréscimo na reoxidação de Q_A (aumento de F_p) ou pela redução na taxa

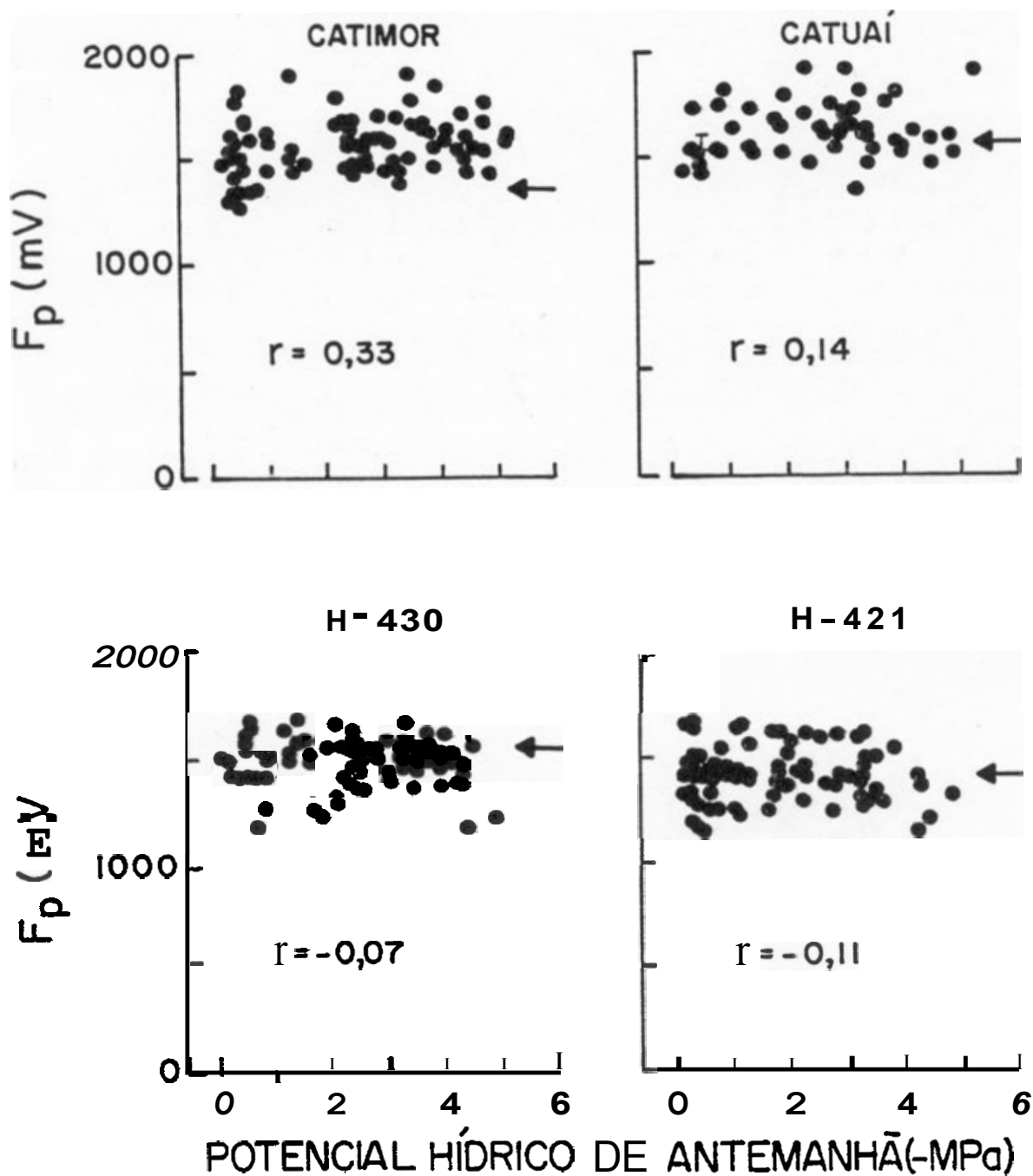


FIGURA 8 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Fluorescências Máximas (F_p) da Clorofila de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

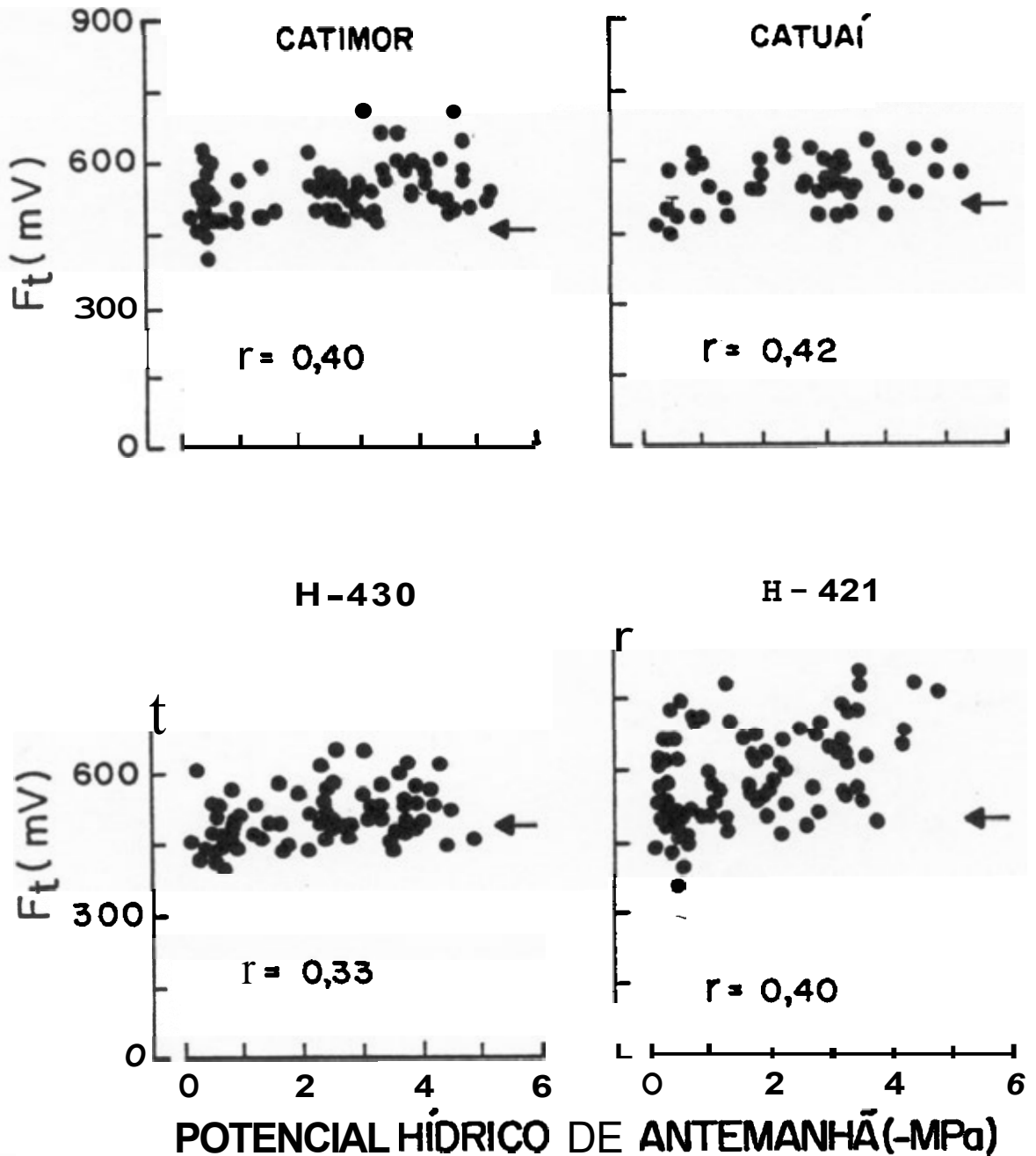


FIGURA 9 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Fluorescências Terminais (F_t) da Clorofila de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

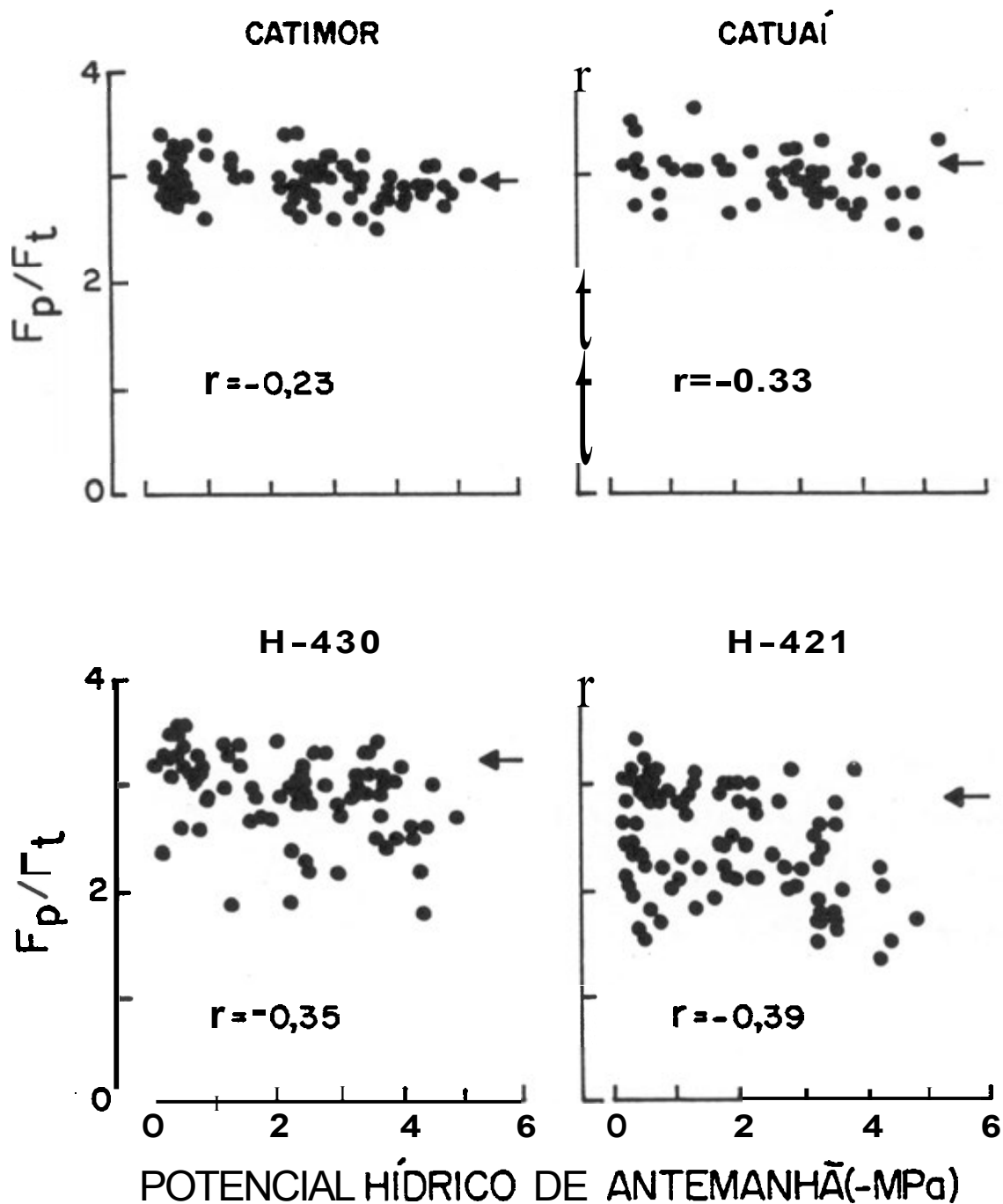


FIGURA 10 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Razões entre Fluorescência Máxima e Terminal (F_p/F_t) da Clorofila de Folhas de Cafe. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

de oxidação da água (decréscimo de F_p), demonstrando que esses processos podem ser afetados diferentemente pelo estresse hídrico (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Entretanto, em *Borya nitida* Labill, a redução de F_p durante a desidratação ocorre em conseqüência da perda de clorofila (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). Já em coníferas, a redução de F_p , durante o estresse hídrico, é atribuída à inativação do complexo de evolução de oxigênio de PS II (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Como F_p é proporcional à quantidade de moléculas de clorofila *a* existente no tecido foliar (MIRANDA *et al.*, 1981), é provável que, durante a desidratação das plantas dos diversos genótipos de café, não houve perda de clorofila, uma vez que os valores de F_p se mantiveram constantes.

A intensidade da fluorescência em nível F_t corresponde ao estado estacionário das reações fotossintéticas (SIFFEL *et al.*, 1988). Desta forma, a razão F_p/F_t pode ser considerada como uma medida da utilização da energia radiante absorvida na fotossíntese. Valores elevados de F_p/F_t , em folhas maduras, implicam melhorias na utilização de energia radiante absorvida e em elevação da velocidade das reações do ciclo de Calvin; em contrapartida, a redução de F_p/F_t indica diminuição na fixação de CO_2 e no consumo de energia luminosa (SIFFEL *et al.*, 1988). Um decréscimo de F_p/F_t , em conseqüência do aumento do tempo de declínio de F_p para F_t , em alta densidade de fluxo luminoso, provavelmente se deve à inibição da reoxidação de Q_A e do "pool" de aceptores de PS II ou à inibição da ativação, induzida pela luz, do lado acceptor de PS II (GENTY *et al.*,

1987). Não havendo a reoxidação de Q_A , evidentemente, outro(s) acceptor(es) terminal(is) pode(m) oxidar Q_A e desempenhar um papel importante na regulação do transporte de elétrons, durante o estresse hídrico (GENTY *et al.*, 1987). Acredita-se que o O_2 aja *in vivo* como um acceptor terminal, diretamente a nível de PS II (BRADBURY *et al.*, 1985). Como ocorreu redução de F_p/F_t para o híbrido H-421, a partir de -2 MPa, é provável que o estresse hídrico tenha induzido uma diminuição maior no transporte fotossintético de elétrons deste híbrido após a plastoquinona, mas em contrapartida não afetou o fluxo de elétrons da água para a plastoquinona, mediado pelo PS II.

Observou-se, nos diversos genótipos de café, um decréscimo na taxa máxima de queda da fluorescência após o pico P (r_2), com a diminuição de Ψ_{AM} (Figura 11). Os valores de r_2 decresceram rapidamente até um Ψ_{AM} de aproximadamente -3,0 MPa, atingindo valores mínimos a -4,0 MPa. A mesma tendência de decréscimo, com a redução de Ψ_{AM} , mas de maneira bem menos acentuada, foi verificada também para a taxa máxima de queda da fluorescência após o pico M (r_3), exceto para o híbrido H-421 (Figura 12). O híbrido H-421 apresentou, durante a desidratação, uma queda de r_3 mais acentuada, em relação aos demais genótipos.

Vários autores já observaram um decréscimo na inclinação inicial do declínio de F_p para F_t , durante a desidratação, na presença de alta densidade do fluxo de luz

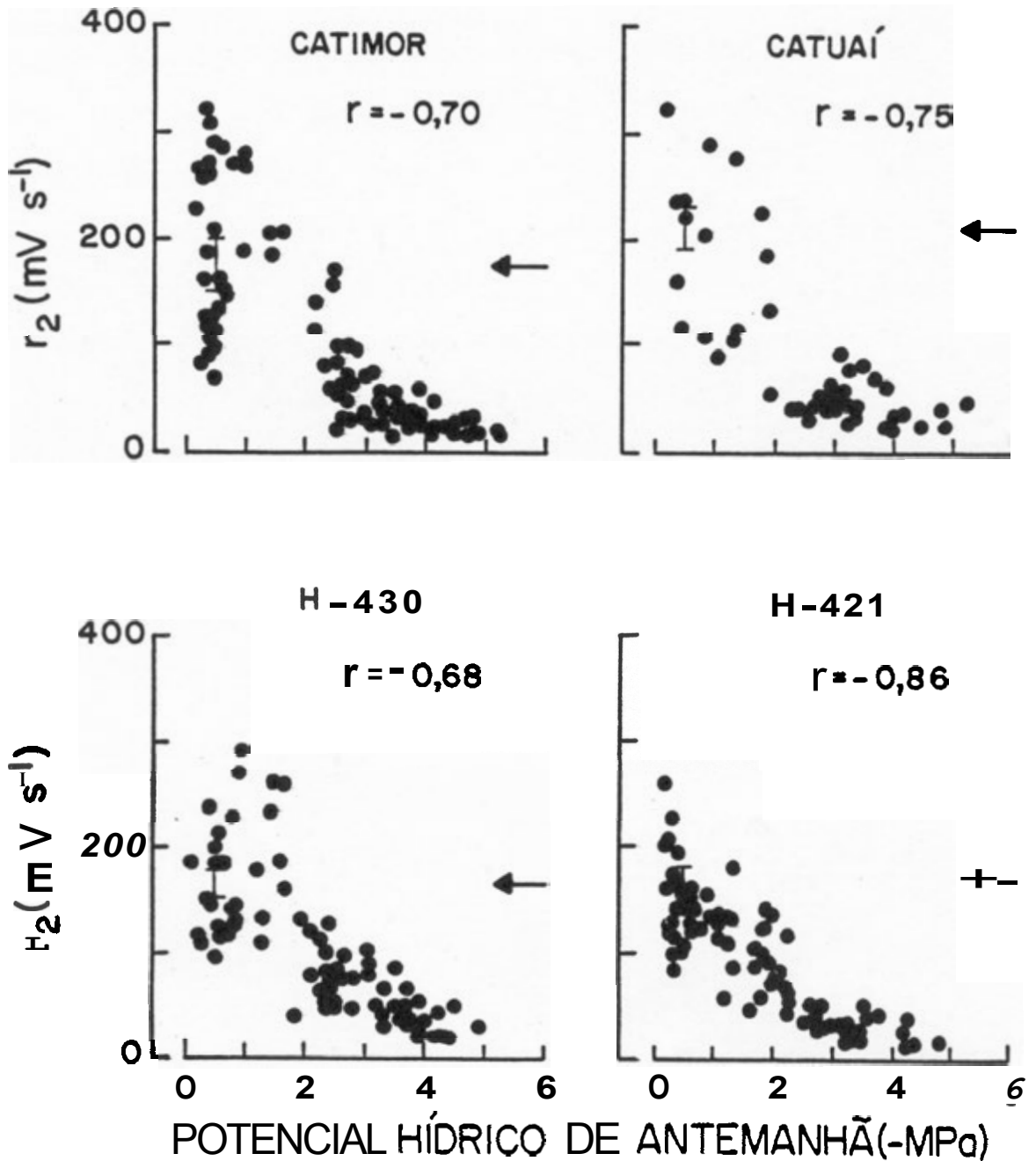


FIGURA 11 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Taxas Máximas de Decréscimo da Fluorescência da Clorofila, Após o Pico P (r_2), de Folhas de Cafe. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

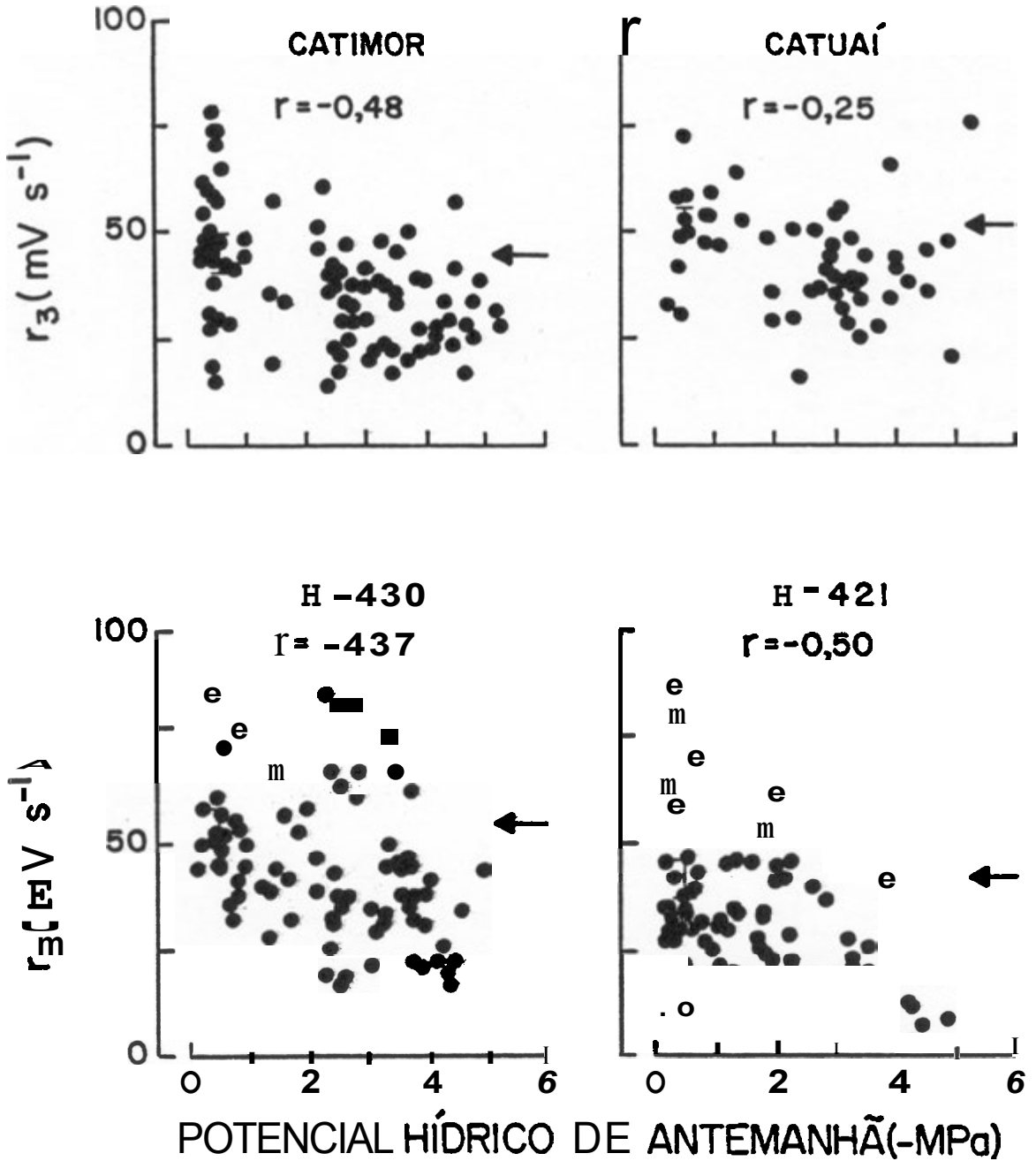


FIGURA 12 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Taxas Máximas de Decréscimo da Fluorescência da Clorofila, Após o Pico M (r_3), de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

(DI MARCO *et al.*, 1988; GENTY *et al.*, 1987; ÖGREN e ÖQUIST, 1985). Uma diminuição no fluxo de elétrons, através de PS I, devida ao enfraquecimento do sistema de transferência ou de fixação de CO_2 , pode provocar uma queda na taxa de reoxidação dos aceptores de PS II, manifestada pelo decréscimo de r_2 e de r_3 e pelo aumento do rendimento da fluorescência variável em nível do estado estacionário (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). A redução da atividade de PS II foi confirmada em cloroplastos isolados, pelo conteúdo foliar de citocromo *f*, de P700 e de ferredoxina-NADP⁺ oxidoreductase (HETHERINGTON *et al.*, 1982). Além disso, em coníferas resistentes ao estresse hídrico, há uma forte correlação entre a elevação da fluorescência do pico M e a absorção de CO_2 , ambos decrescendo com a severidade do estresse (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Baixos valores de M refletem-se em redução no potencial eletroquímico transmembrana dos cloroplastos, provocando uma diminuição da resistência ao fluxo de elétrons (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Desta forma, é possível que o estresse hídrico tenha provocado, nos diversos genótipos de café, uma diminuição no fluxo de elétrons através de PS II, principalmente para o do híbrido H-421, como foi discutido anteriormente com relação à redução de F_p/F_t .

Houve, nos diversos genótipos estudados, uma correlação linear entre a evolução de oxigênio fotossintético e a taxa máxima de decréscimo da fluorescência após F_p (Figura 13). Esta mesma observação foi feita em plantas de trigo por DI MARCO *et al.* (1988). Isto

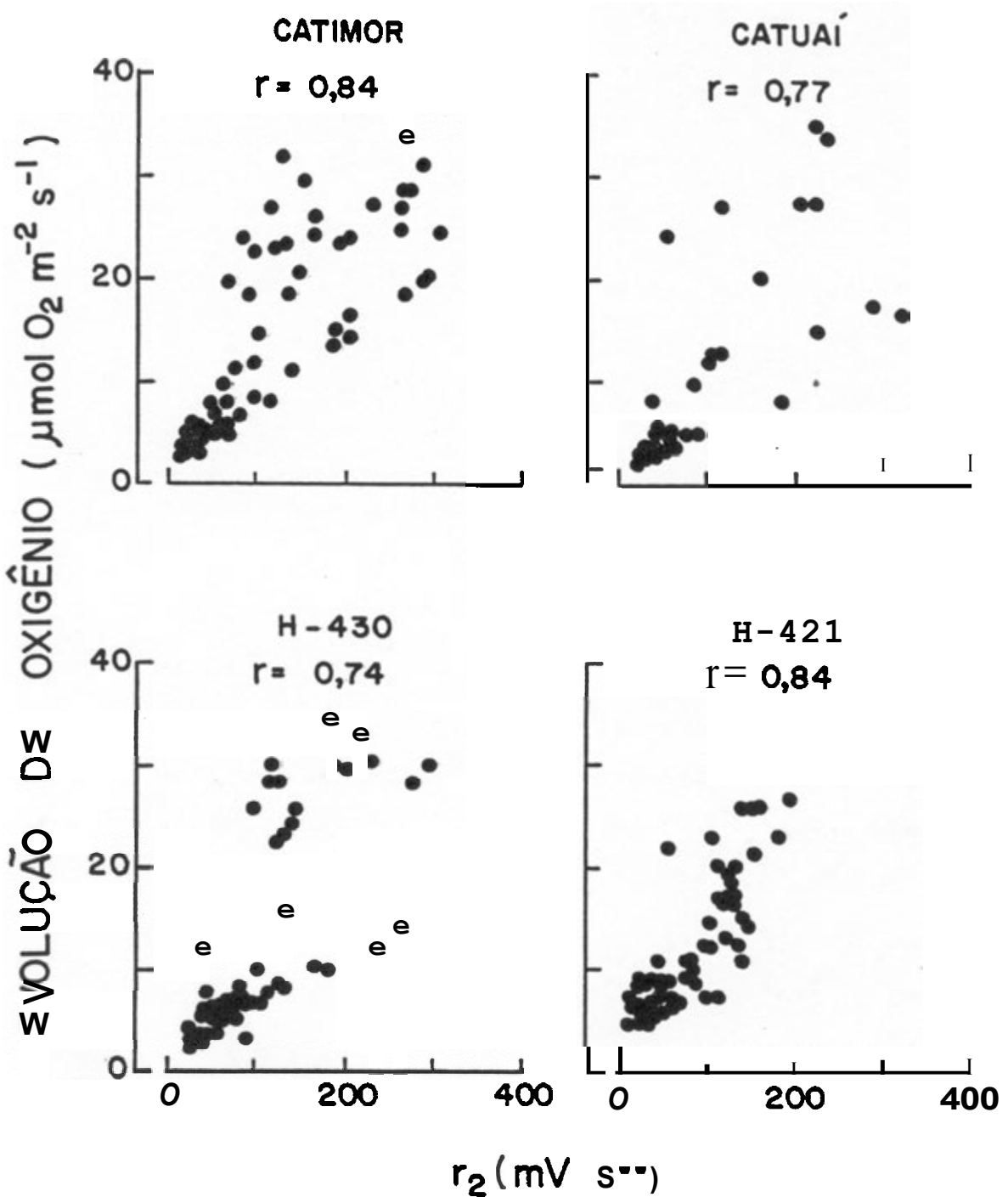


FIGURA 13 - Relação entre Taxas de Fotossíntese e Taxas Máximas de Decrescimo da Fluorescência da Clorofila Após o Pico P (r_2) de Café, sob Condições de Deficiência Hídrica. Cada Símbolo Representa uma Medição

se deve ao fato de que as variações na emissão da fluorescência da clorofila estão estritamente relacionadas com a taxa de assimilação de CO_2 (IRELAND *et al.*, 1984; OGAWA, 1982; WALKER *et al.*, 1983) e com a evolução de O_2 (WALKER *et al.*, 1983), pois durante a assimilação do carbono, a reoxidação de $\text{NADPH} + \text{H}^+$ favorece igualmente a de Q_A e a fluorescência diminui (WALKER, 1981).

Praticamente não houve variações significativas na capacidade de extinção da fluorescência (F_q), durante a desidratação das plantas dos diversos genótipos de café, exceto para o híbrido H-421 (Figura 14), no qual se observou uma leve tendência de queda de F_q a partir de Ψ_{AM} de $-3,0$ MPa. Observou-se o mesmo comportamento com relação à razão de decréscimo da fluorescência (R_{fd}) (Figura 15). Em contrapartida, o tempo necessário para atingir a metade da diferença entre F_p e F_t ($t_{\frac{1}{2}}$), a partir de $-2,0$ MPa, aumentou para todos os genótipos, principalmente para o híbrido H-421, que apresentou um aumento mais pronunciado (Figura 16).

O decréscimo da fluorescência após o pico P resulta das extinções fotoquímica e não-fotoquímica (EPRON e DREYER, 1990). A extinção fotoquímica é devída à reoxidação do acceptor primário de elétrons de PS II, durante o início da redução do carbono; enquanto a não-fotoquímica resulta, em grande parte, da desexcitação termica de PS II, associada com a reconstrução do gradiente transtilacoidal de prótons e, em menor extensão, da transferência da energia de excitação de PS II para PS I (KRAUSE *et al.*, 1988). No início da assimilação do carbono, aumenta o valor da

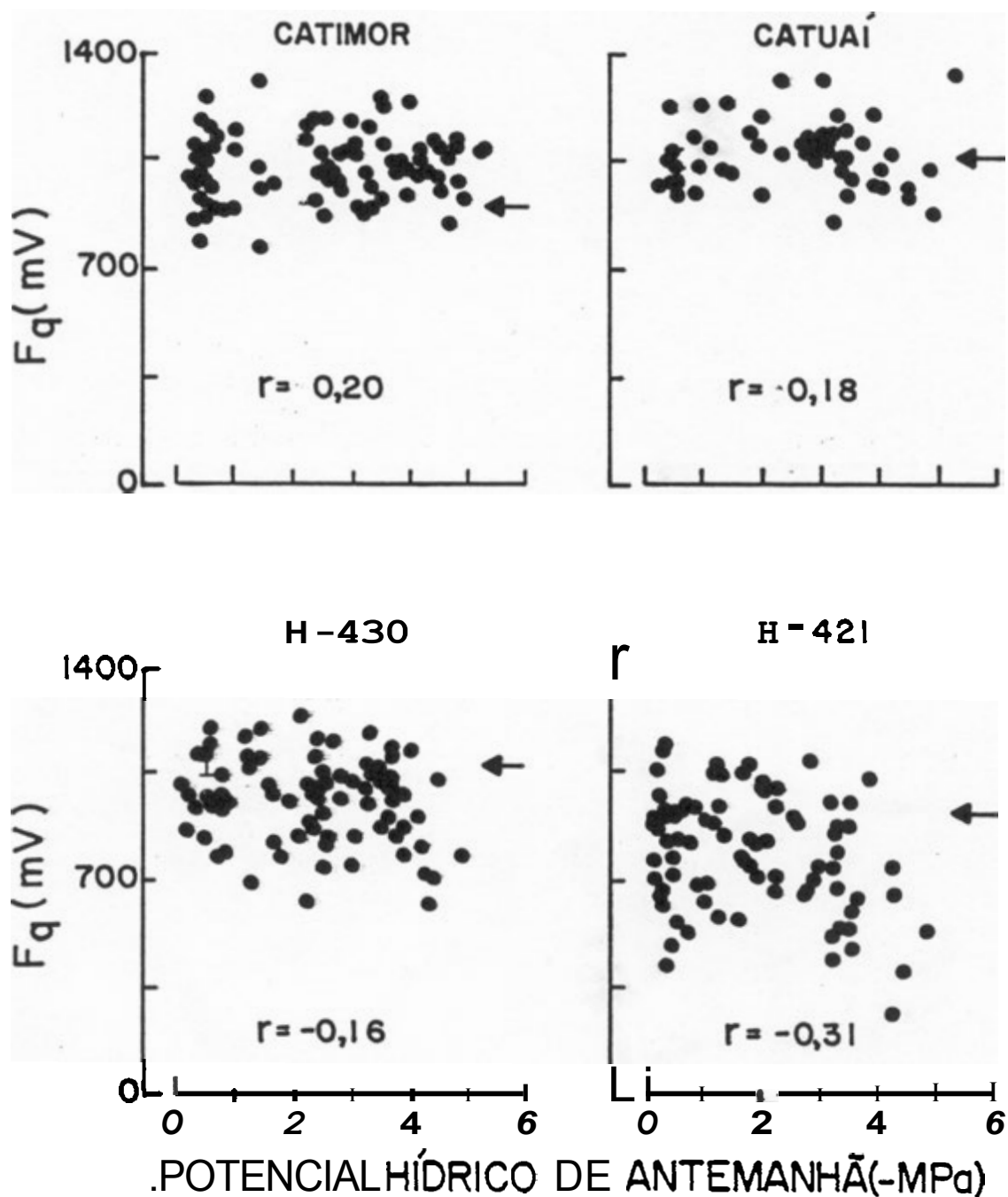


FIGURA 14 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Capacidades de Extinção da Fluorescência da Clorofila (F_q) de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

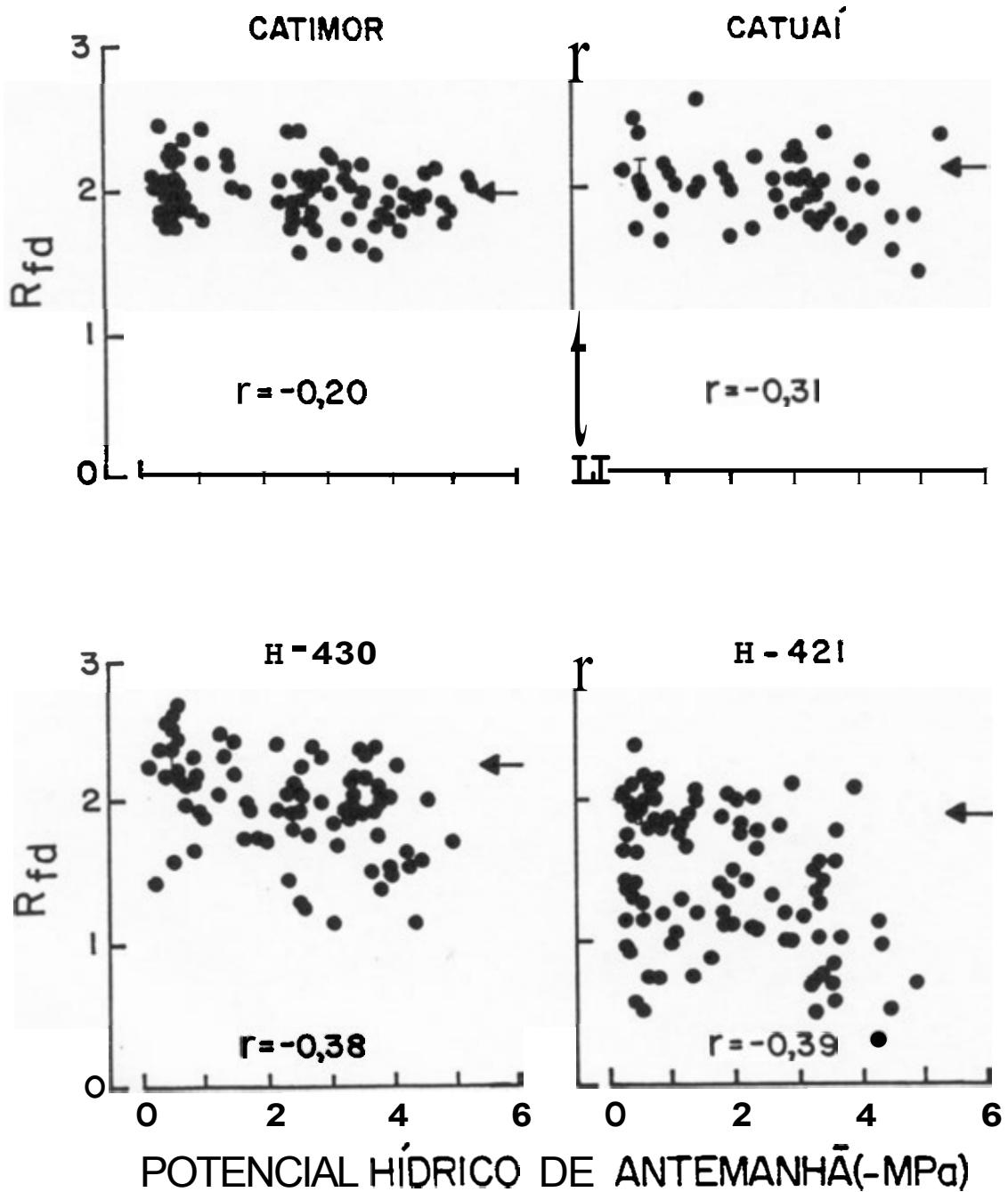


FIGURA 15 - Efeito da Deficiência Hídrica nas Razões de Decréscimo da Fluorescência da Clorofila (R_{fd}) de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

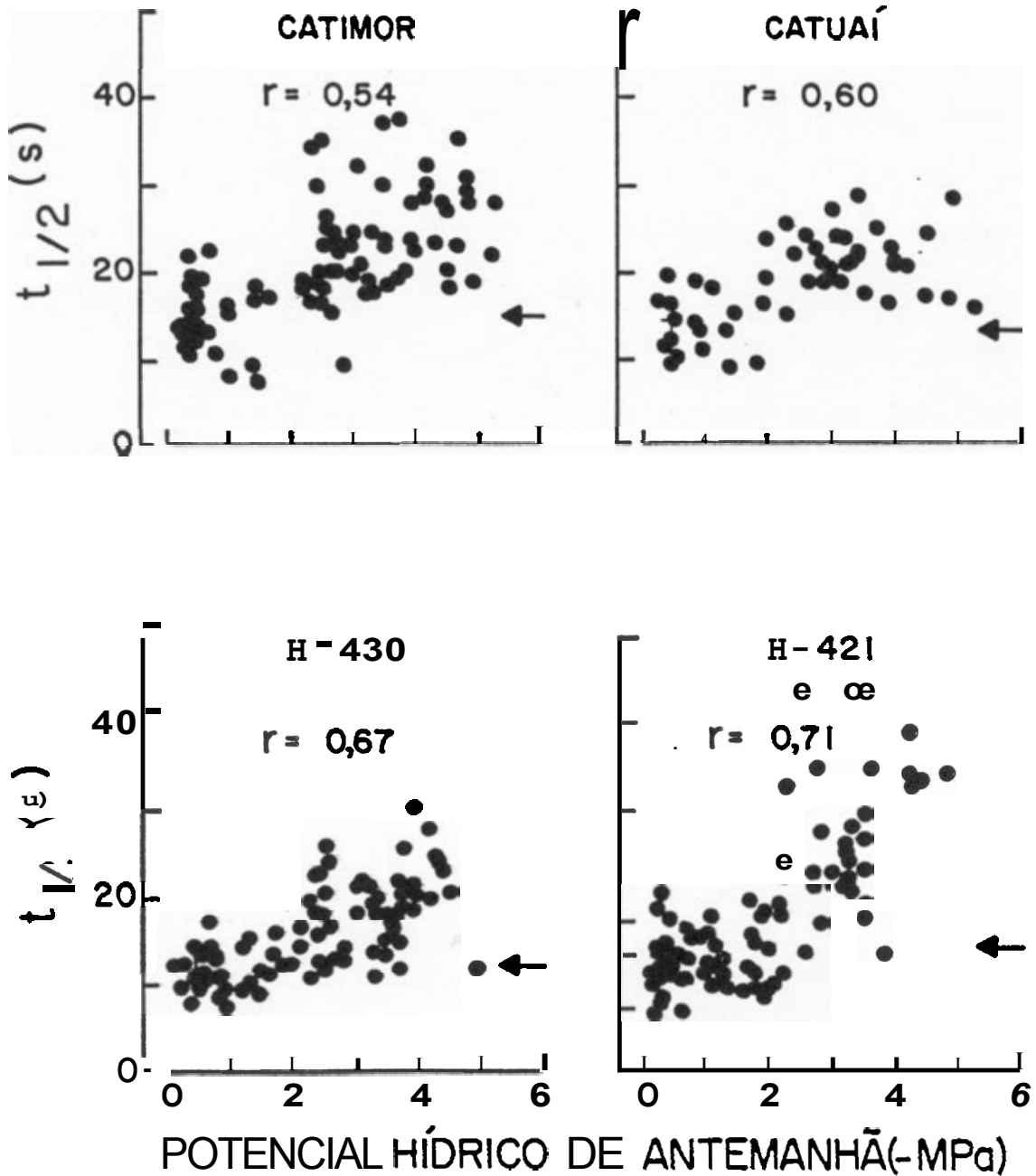


FIGURA 16 - Efeito da Deficiência Hídrica nos Tempos Necessários Para Atingir o Nível $(F_p - F_t)/2(t_{1/2})$ de Folhas de Café. Cada Símbolo Representa uma Medição. A Seta e a Barra Indicam o Valor Médio do Controle Obtido de Dez Repetições $\pm S(\hat{m})$

extinção fotoquímica, pelo consumo de $\text{NADPH} + \text{H}^+$; em contrapartida, diminui a extinção não-fotoquímica, através do consumo de ATP e da dissipação de ΔpH . Desta forma, a emissão de fluorescência observada representa um balanço entre esses dois processos opostos (IRELAND *et al.*, 1984). Entretanto, as análises das características da fluorescência de folhas mostram que a extinção fotoquímica não está necessariamente relacionada com as reações fotoquímicas de PS II (GENTY *et al.*, 1989, 1990; HARBINSON *et al.*, 1989; WEIS e BERRY, 1987). Este fenômeno é atribuído aos processos de extinção não-fotoquímica, que competem com as reações fotoquímicas de PS II pela energia de excitação (HORTON e HAGUE, 1988; WEIS e BERRY, 1987). Existe uma relação linear entre extinção da fluorescência e a concentração intratilacoidal de H^+ (BRIANTAIS *et al.*, 1979). Com a redução do potencial hídrico foliar, a transição da extinção fotoquímica quase não é afetada, ao passo que a não-fotoquímica aumenta (STUHLFAUTH *et al.*, 1988). Uma vez estabelecido o transporte de elétrons via PS II e o gradiente de prótons transmembrana, os valores finais das extinções fotoquímica e não-fotoquímica permanecem inalterados pelo estresse hídrico (STUHLFAUTH *et al.*, 1988).

A estabilidade de R_{fd} e de $t_{\frac{1}{2}}$ está relacionada com a estabilidade das extinções fotoquímica e não-fotoquímica (EPRON e DREYER, 1990; STUHLFAUTH *et al.*, 1988). A constância destes parâmetros implica a estabilidade do fluxo de elétrons de PS II para os aceptores primários e da intensidade de desexcitação termica de PS II (EPRON e DREYER, 1990). A evolução de R_{fd} , sob estresse hídrico

foliar, é raramente documentada. Entretanto, SCHWAB *et al.* (1989) mostraram uma estabilidade de R_{fd} em *Spinacia oleracea*. Quando a desidratação se torna muito severa, R_{fd} diminui e $t_{\frac{1}{2}}$ aumenta, indicando um possível dano no aparelho fotossintético (EPRON e DREYER, 1990). Em algumas espécies de *Quercus*, surpreendentemente, $t_{\frac{1}{2}}$ e R_{fd} não foram afetados pela desidratação até que o Ψ_{AM} alcançasse valores inferiores a $-4,0$ MPa, que está bem abaixo do ponto de turgescência destas espécies (DREYER *et al.*, 1990). Entretanto, nestas espécies, após uma grande perda de Água, o nível F_t e o valor de $t_{\frac{1}{2}}$ aumentaram, enquanto os níveis F_p não foram afetados pela desidratação rápida *in vitro* de discos foliares, embora mostrassem fortes reduções durante um estresse hídrico severo *in situ* (EPRON e DREYER, 1990). Como nos diversos genótipos de café, os valores de $t_{\frac{1}{2}}$ aumentaram a partir de $-2,0$ MPa, enquanto os de F_q e R_{fd} tiveram uma leve tendência de diminuição a partir de $-3,0$ MPa. Apenas para o híbrido H-421, é provável que o dano no aparelho fotossintético se tenha iniciado em potenciais hídricos um pouco abaixo do ponto de perda de turgescência.

4.2.2. Ciclo de Reidratação

A cinética de indução da fluorescência lenta, durante a reidratação das plantas dos diversos genótipos estudados, não mostrou variações nos valores de F_p , ao passo que houve uma leve tendência de redução nos de F_t (Figuras 17, 18, 19 e 20). Durante o período de reidratação, r_2 e r_3 aumentaram, os picos P e M reapareceram e suas amplitudes reduziram-se

(Figuras 17, 18, 19 e 20). O tempo de recuperação total da fluorescência variou entre os diversos genótipos. Para a progênie de Catimor, o tempo de recuperação foi de 6h (Figura 17), para a linhagem de Catuaf e o híbrido H-430 de 24h (Figuras 18 e 19) e para o híbrido H-421 de 48h (Figura 20). Além disso, o reaparecimento do pico M ocorreu após 3h de reidratação para todos os genótipos, exceto para o híbrido H-430 que foi de 6h (Figura 19).

BJÖRKMAN e POWLES (1984) observaram, após a reidratação das plantas de *Nerium oleander*, que a inativação das reações fotoquímicas, manifestadas pelas variações nas características da fluorescência, e a redução da atividade do transporte de elétrons, nos cloroplastos de folhas desidratadas, foram restabelecidas lentamente. Acredita-se que o dano irreversível, no cloroplasto, ocorra somente em R' inferior a 30% (KAISER, 1987). Nestas condições, pode haver prejuízo a nível de membrana, principalmente durante a reidratação, em virtude, provavelmente, da incapacidade de as células reincorporarem rapidamente o material da membrana danificada, nos organelos em expansão (JOHNSON-FLANAGAN e SINGH, 1986). Sabe-se que o aumento da força iônica, provocada pela desidratação, pode reduzir as interações iônicas entre as membranas e suas proteínas extrínsecas, levando a uma dissociação do sistema (CHAVES, 1991). Em baixos potenciais hídricos foliares, observam-se perda de atividade do fator de acoplamento (ATP sintase) e mudanças conformacionais nos cloroplastos (YOUNIS *et al.*, 1979). Isto causa desacoplamento da fosforilação, em relação ao fluxo de elétrons (CHAVES, 1991), que pode ser provavelmente

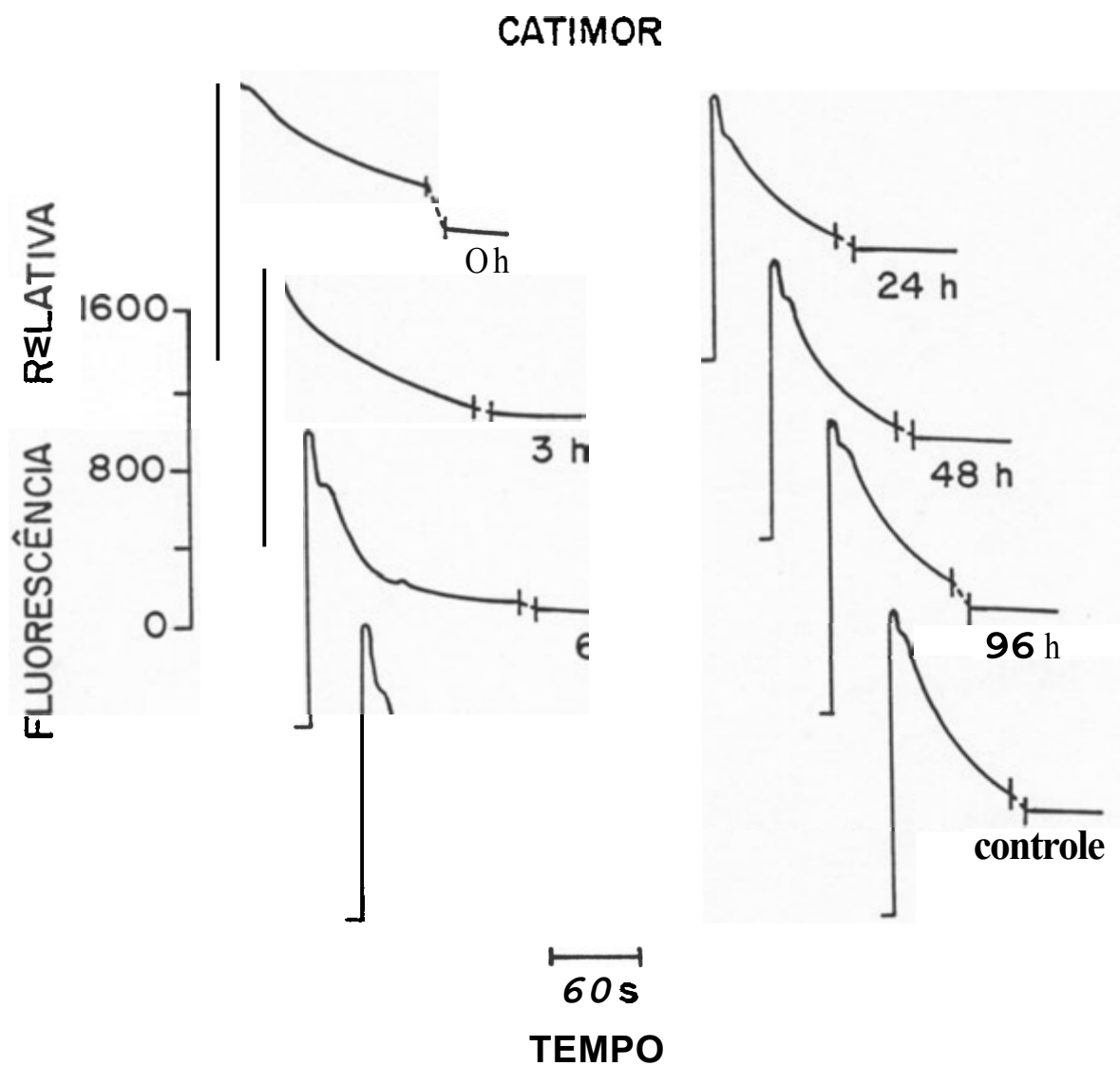


FIGURA 17 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas da Progenie de Catimor, Após a Reidratação

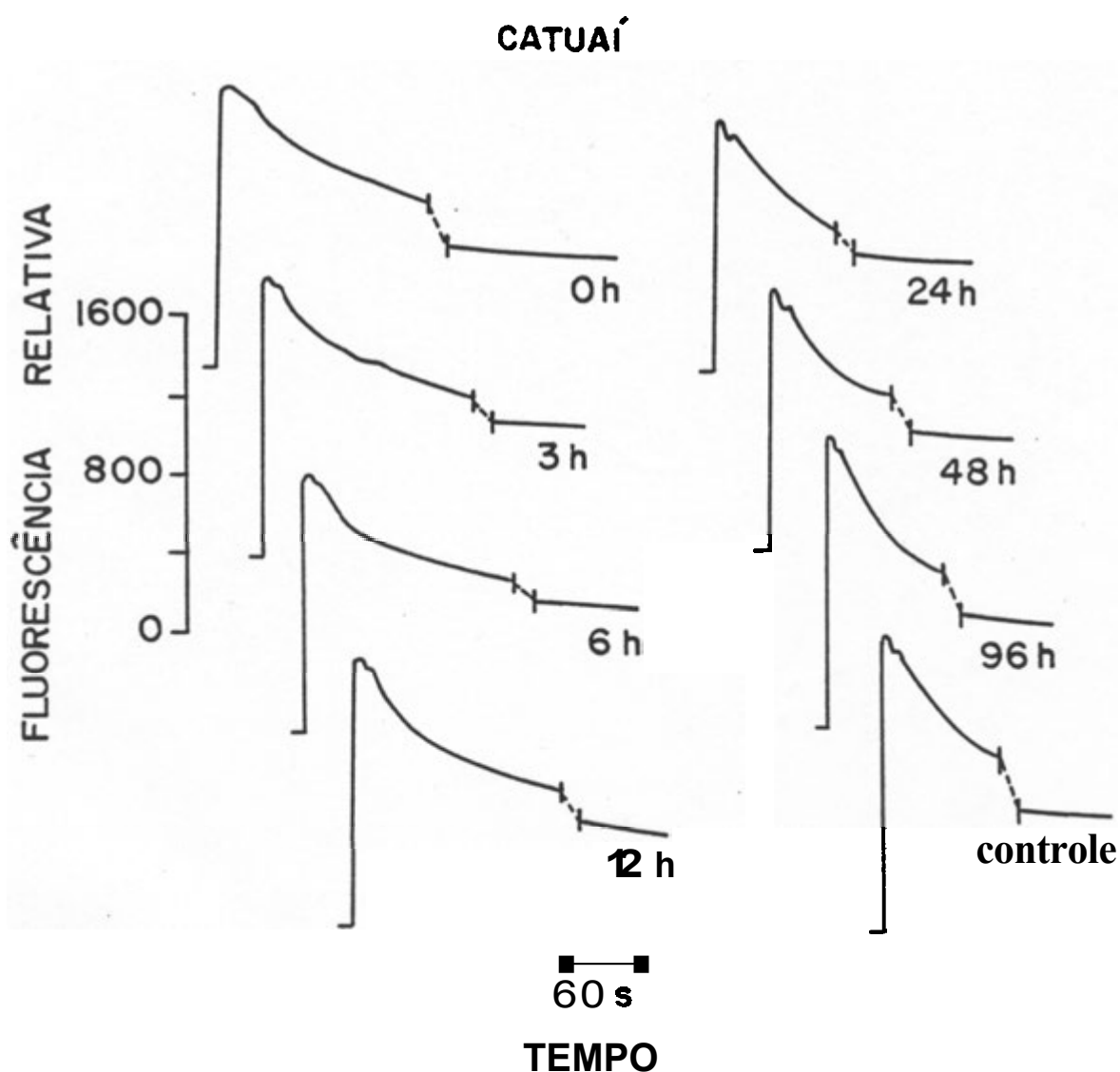


FIGURA 18 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas da Linhagem de Catuaí, Após a Reidratação

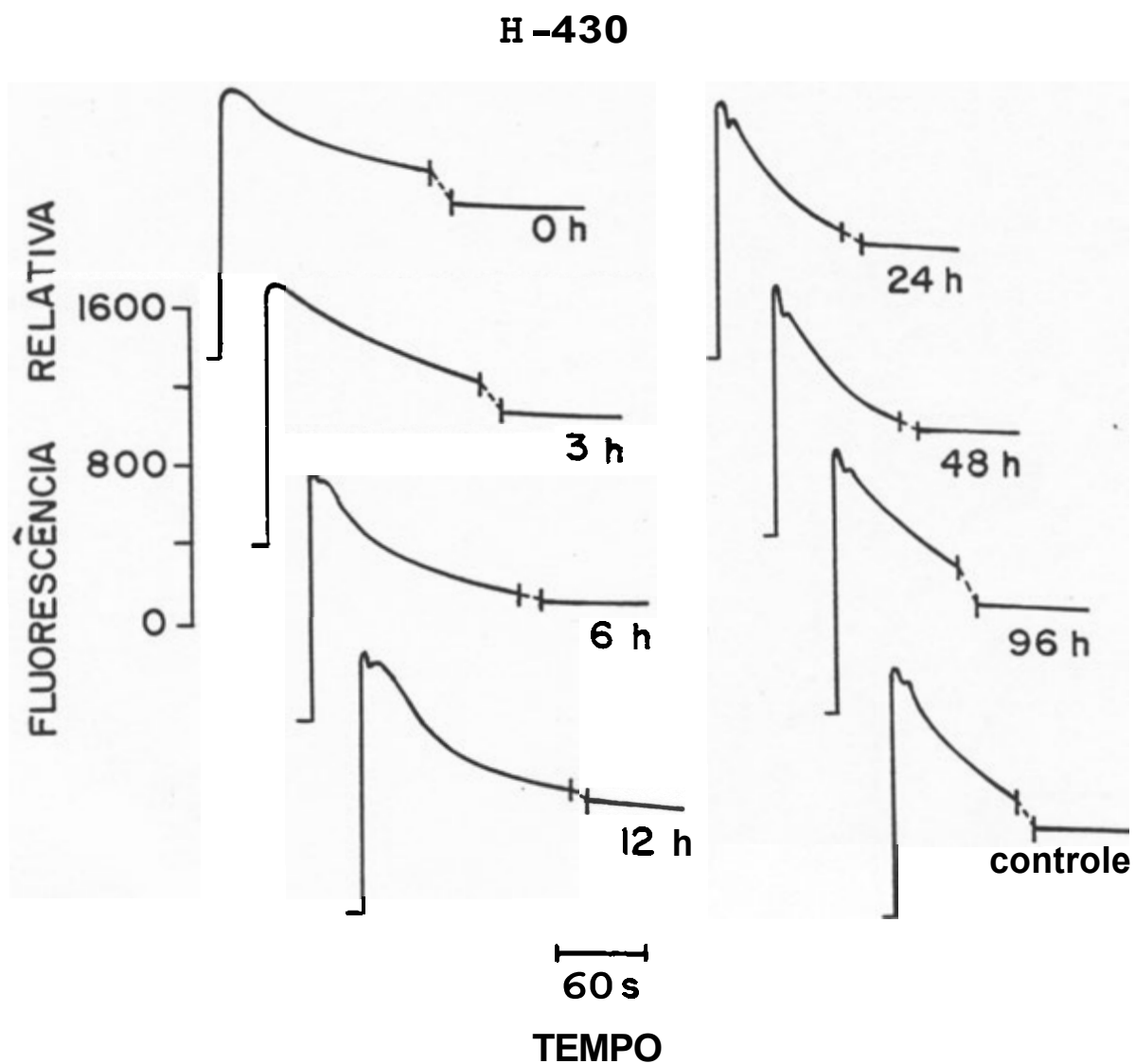


FIGURA 19 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas do Híbrido H-430, Após a Reidratação

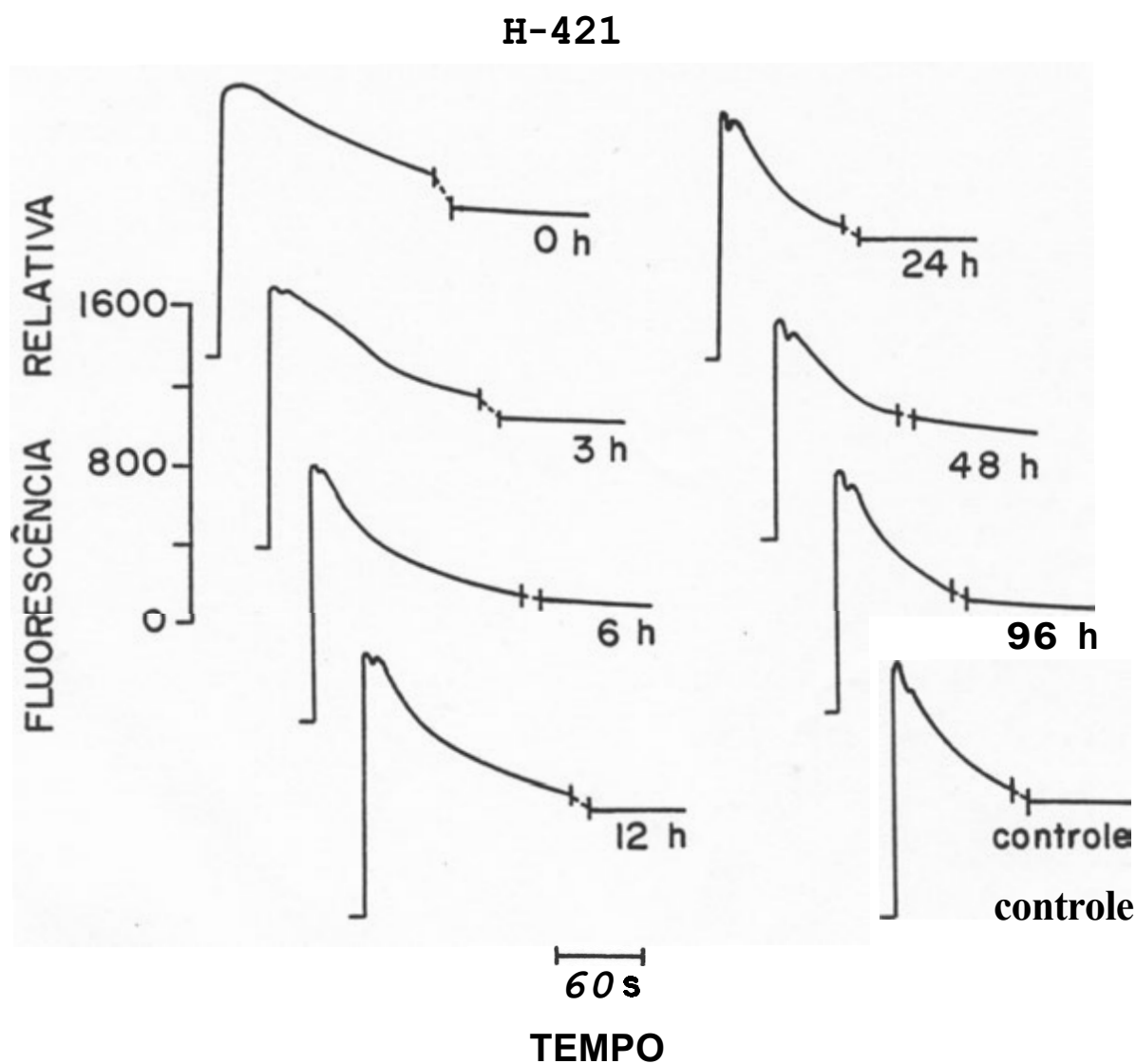


FIGURA 20 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Cinéticas de Indução da Fluorescência Lenta da Clorofila de Folhas do Híbrido H-421, Após a Reidratação

evidenciado pelas mudanças nas características da fluorescência, após a reidratação das plantas. Além disso, quando não há evolução líquida de O_2 , a não ser que o complexo de evolução do oxigênio de PS II esteja inativado, a inibição da assimilação de CO_2 , induzida pelo estresse hídrico, e a diminuição da demanda por $NADPH + H^+$ causam um aumento na produção de superóxido, que pode provocar danos na membrana lipídica e nos tilacóides dos cloroplastos (FURBANK e BADGER, 1983).

O estresse hídrico também predispõe as folhas à fotoinibição (BJÖRKMAN e POWLES, 1984; GOVINDJEE *et al.*, 1981; YOUNIS *et al.*, 1979), um processo reversível, que pode durar minutos ou horas, visto como um mecanismo protetor controlado, que serve para dissipar a energia excessiva (KRAUSE, 1988). A fotoinibição provoca um decréscimo na capacidade de transporte de elétrons associado com o PS II (POWLES e BJÖRKMAN, 1982; POWLES e CRITCHLEY, 1980; POWLES *et al.*, 1979) e é, conseqüentemente, detectável por variações na fluorescência da clorofila das folhas (CRITCHLEY e SMILLIE, 1981; DOWNTON, 1983). A recuperação da fotoinibição é parcialmente devida à síntese de proteína nos cloroplastos (EPRON e DREYER, 1990; GREER *et al.*, 1986; LE GOUALLEC e CORNIC, 1988). Desta forma, a recuperação mais rápida da fluorescência para o Catimor, em relação aos demais genótipos, mostra que a desidratação provavelmente não afetou fortemente o transporte fotossintético de elétrons nesta progênie, ao contrário do híbrido H-421, cuja recuperação se tornou bem mais lenta. Supõe-se que a queda no transporte de elétrons, provocada pelo estresse hídrico

no H-421, não seja devida à fotoinibição, uma vez que a fluorescência máxima não variou durante a reidratação. Além do mais, o híbrido H-430 provavelmente apresentou uma reabilitação mais lenta da fotofosforilação oxidativa, em relação aos diversos genótipos, evidenciada pela demora no reaparecimento do pico M.

Nos diversos genótipos de café, os valores de F_p , F_t , e conseqüentemente os de F_p/F_t , mantiveram-se praticamente constantes e em nível do controle, durante todo o período de reidratação (Quadros 3, 4 e 5; Figuras 21, 22 e 23). O fato de F_p não ter variado, durante o ciclo de déficit hídrico, reafirma a hipótese de que a distribuição de energia em PS II e a capacidade de absorção de luz de todas as clorofilas permanecem constantes (STUHLFAUTH *et al.*, 1988). Isto significa que as reações fotoquímicas de PS II e sua capacidade em reduzir o aceptor primário Q_A não são afetadas pelo estresse hídrico (GOVINDJEE *et al.*, 1981). Desta forma, a oxidação da água é menos sensível à deficiência hídrica, em relação à absorção de CO_2 e ao transporte de elétrons (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Supõem-se que o efeito inicial do estresse hídrico seja nas reações de assimilação de CO_2 , ao passo que as reações fotoquímicas parecem ser afetadas somente quando a desidratação diminui a demanda para os nucleotídeos de alta energia e, em conseqüência, o transporte de elétrons torna-se inibido e inicia-se uma diminuição no potencial transmembrana do tilacóide (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Entretanto, POWLES (1984) verificou que o decréscimo no rendimento quântico da assimilação líquida de CO_2 e nos níveis F_p da cinética da

QUADRO 3 - Fluorescência Máxima (F_p), em Três Genótipos de Cafe, Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	F_p (mV)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	1340 A	1325 A	1420 A
3 h	1390 A	1330 A	1490 A
6 h	1338 A	1365 A	1340 A
12 h	1348 A	1158 B	1283 AB
24 h	1225 B	1460 A	1243 B
48 h	1380 A	1285 A	1129 B
96 h	1365 A	1383 A	1224 A

* As medias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

QUADRO 4 - Fluorescência Terminal (F_t), em Três Genótipos de Café, Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	F_t (mV)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	615 A	543 A	630 A
3 h	548 B	565 <i>0</i>	750 A
6 h	585 A	583 A	708 A
12 h	548 A	495 A	605 A
24 h	543 A	583 A	663 A
48 h	580 A	513 A	630 A
96 h	508 A	525 A	531 A

* As médias seguidas de **pelo** menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

QUADRO 5 - Relação entre Fluorescência Máxima e Fluorescência Terminal (F_p/F_t), em Três Genótipos de Café, Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	F_p/F_t		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	2,20 A	2,45 A	2,28 A
3 h	2,58 A	2,35 AB	2,03 B
6 h	2,30 A	2,40 A	2,00 A
12 h	2,48 A	2,38 A	2,18 A
24 h	2,28 AB	2,53 A	1,95 B
48 h	2,38 A	2,53 A	1,85 B
96 h	2,70 A	2,63 A	2,30 A

* As medias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

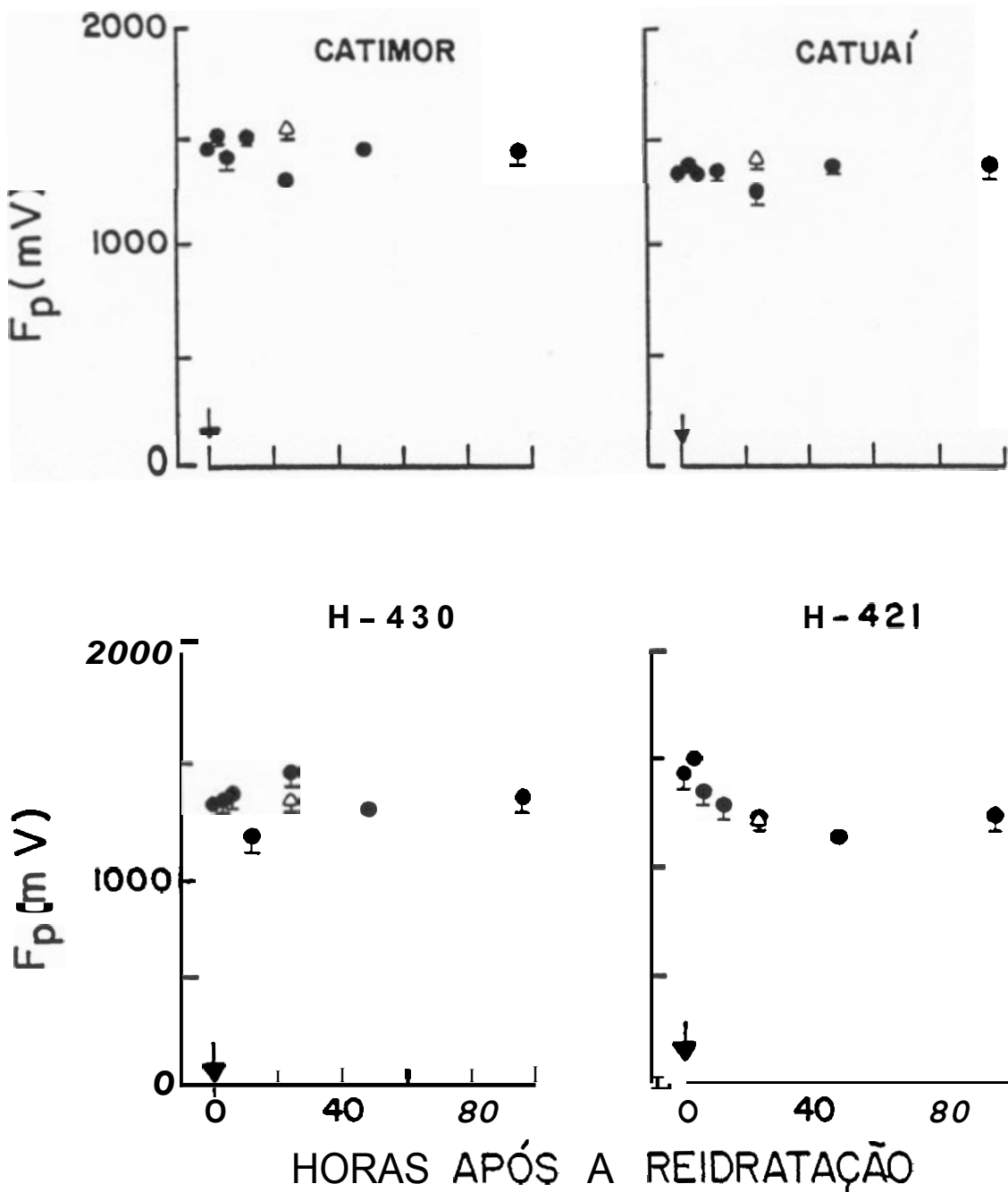


FIGURA 21 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Fluorescências Máximas (F_p) da Clorofila de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo Valor do Controle

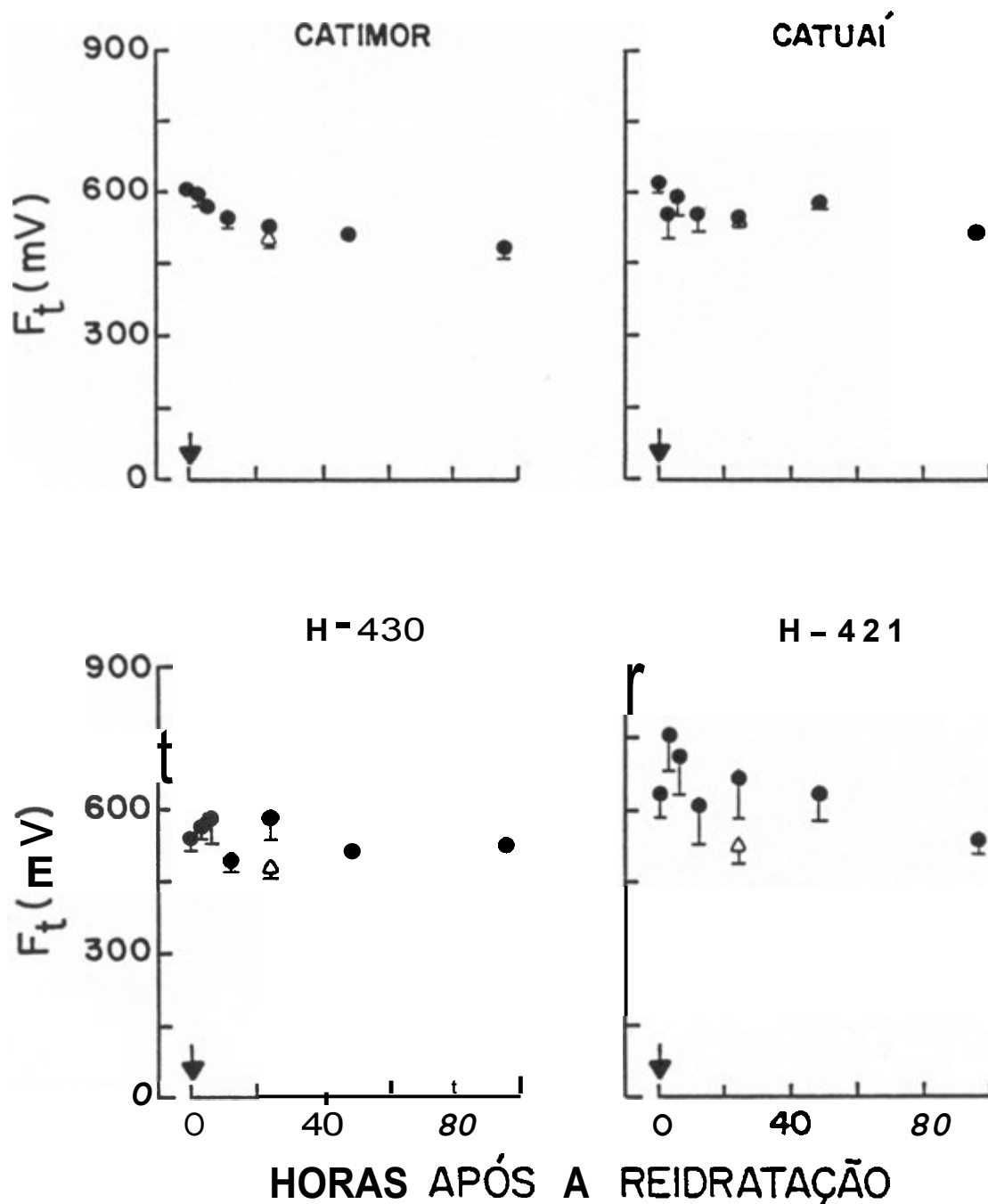


FIGURA 22 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Fluorescências Terminais (F_t) da Clorofila de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

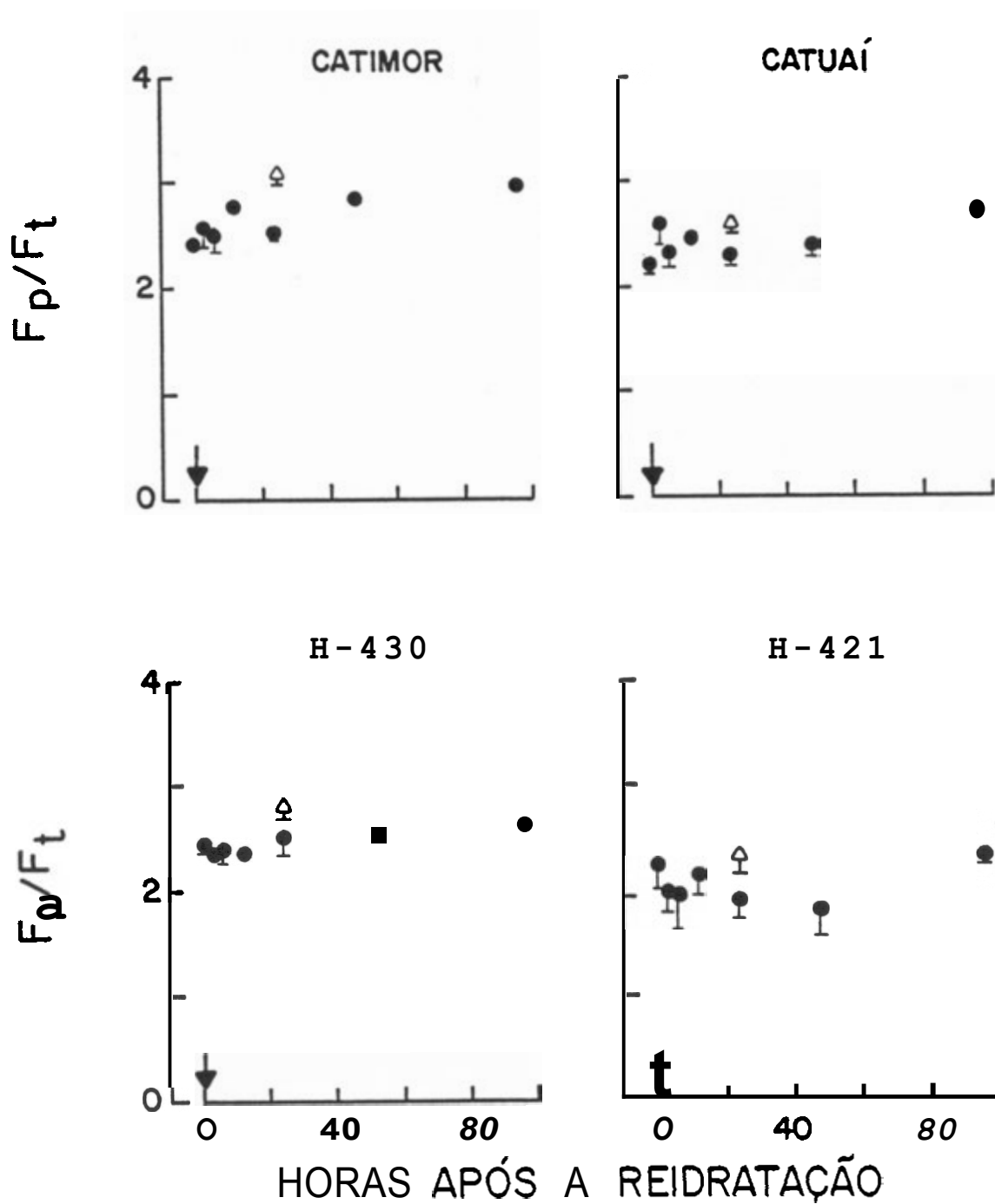


FIGURA 23 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Relações entre Fluorescências Máxima e Terminal (F_p/F_t) da Clorofila de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

fluorescência da clorofila demonstram que o transporte de elétrons e , particularmente, a atividade de PS II estão inibidas. Espera-se contudo que a assimilação de CO_2 possa persistir com valores relativamente baixos de F_p ou que níveis elevados de F_p possam acompanhar baixas taxas de absorção de CO_2 (TOIVONEN *e* VIDAVER, 1988). A constância nos valores de F_t *e*, conseqüentemente, nos de F_p/F_t , durante o ciclo de deficit hídrico, mostra que a desidratação não afetou a coleta *e* a distribuição de fótons entre os fotossistemas II *e* I (GENTY *et al.*, 1987).

Durante a reidratação das plantas dos diversos genótipos de café, os valores de r_2 *e* r_3 variaram (Quadro 6 *e* 7; Figuras 24 *e* 25). Para a linhagem de Catuaí *e* para o híbrido H-430, a recuperação de r_2 , em nível do controle, verificou-se após 12h de reidratação, ao passo que para a progenie de Catimor *e* para o híbrido H-421 isso ocorreu após 3 *e* 6h, respectivamente (Figura 24). O Catimor, além de ter apresentado uma recuperação mais rápida, mostrou valores de r_2 bem acima do controle, em relação aos demais genótipos, ao contrario do híbrido H-421, que, apesar de ter mostrado também um tempo menor de recuperação, mostrou baixos valores de r_2 (Figura 24). Já os valores de r_3 recuperaram-se bem mais rapidamente, em nível do controle, em relação aos de r_2 . A recuperação verificou-se durante as primeiras 3h de reidratação, para os vários genótipos de café (Figura 25).

QUADRO 6 - Taxa Máxima de Decréscimo da Fluorescência Após o Pico P (r_2), em Três Genótipos de Café, Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	r_2 (mV s ⁻¹)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	7 A	23 A	17 A
3 h	31 A	23 A	38 A
6 h	42 C	79 B	118 A
12 h	164 A	163 A	123 B
24 h	160 B	186 A	143 B
48 h	182 B	206 A	145 C
96 h	118 B	205 A	140 B

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

QUADRO 7 - Taxa Máxima de Decréscimo da Fluorescência Após o Pico M (r_3), em Três Genótipos de Café, Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	r_3 (mV s ⁻¹)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	16 A	27 A	19 A
3 h	43 A	17 B	19 B
6 h	34 A	35 A	29 A
12 h	25 A	29 A	29 A
24 h	21 B	47 A	27 B
48 h	21 B	34 A	17 B
96 h	42 A	21 B	34 AB

* **As** médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

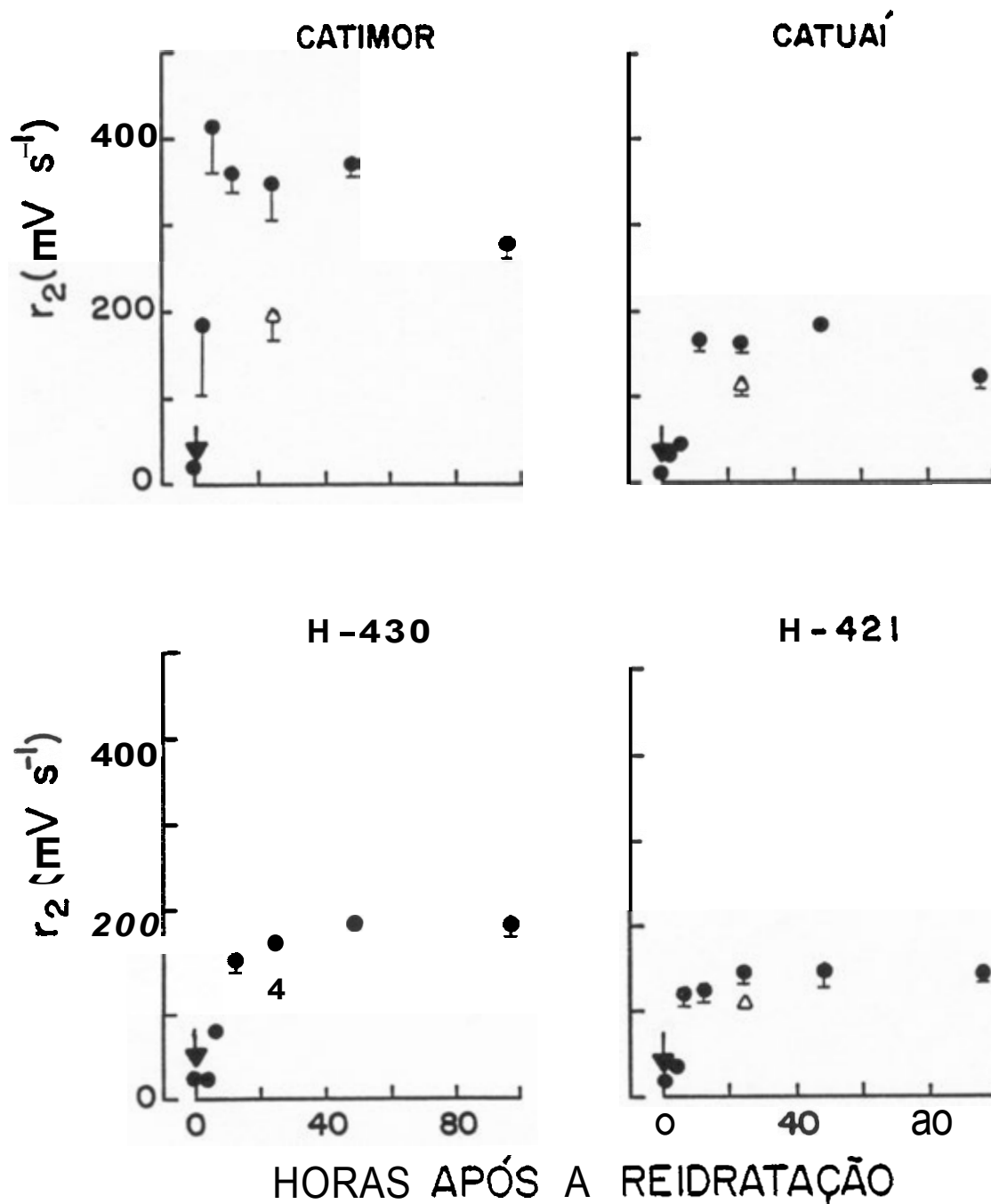


FIGURA 24 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Taxas Máximas de Decréscimo da Fluorescência da Clorofila, Após o Pico P (r_2), de Folhas de Café, Depois da Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

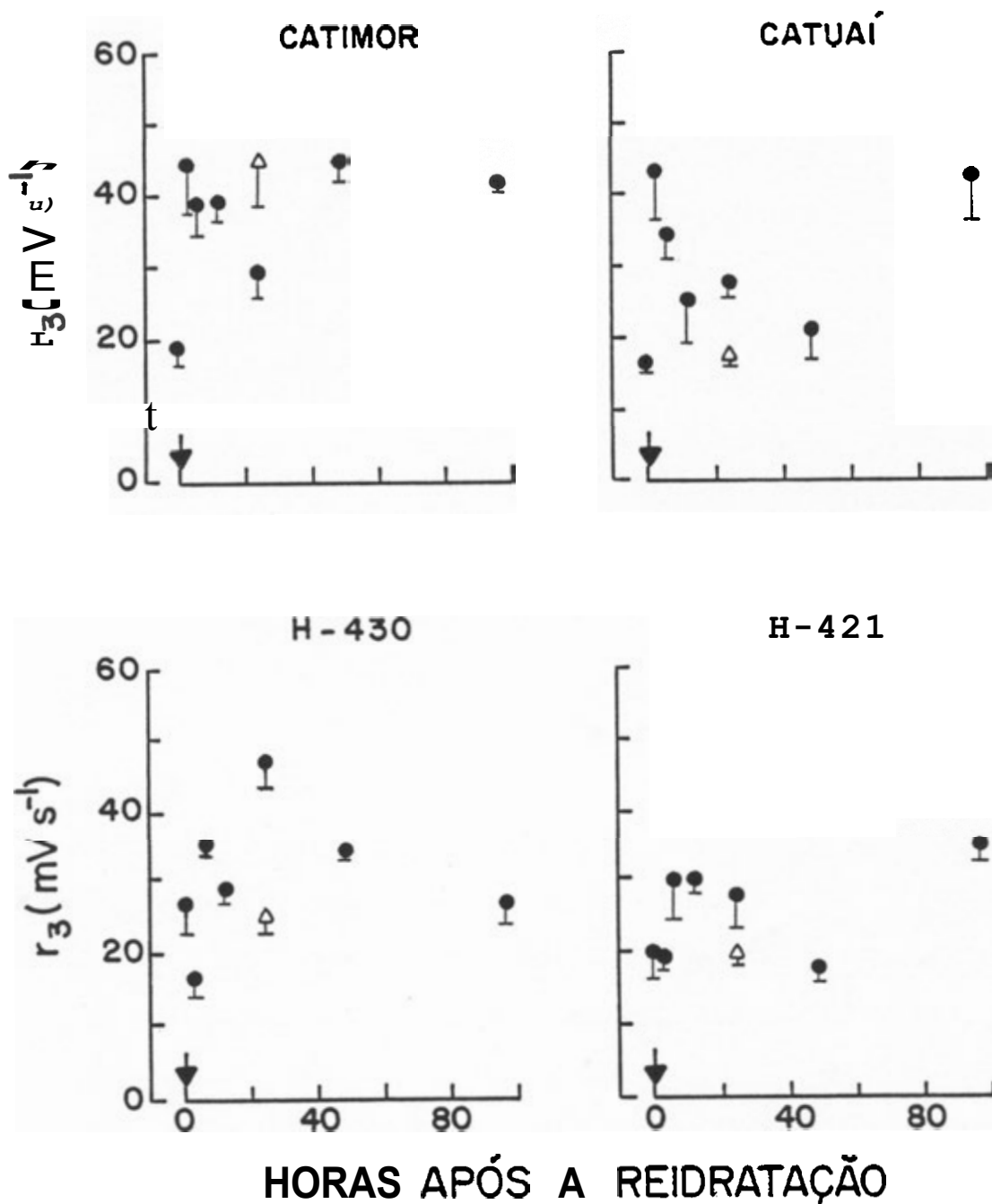


FIGURA 25 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Taxas Máximas de Decrescimento da Fluorescência da Clorofila, Após o Pico M (r_3), de Folhas de Café, Depois da Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

Vários fatores podem contribuir com a queda do rendimento da fluorescência após o pico P, incluindo a reoxidação dos aceptores de PS II, gerada pelo PS I e pela atividade do ciclo de Calvin: as mudanças conformacionais dependentes de energia, nas membranas tilacóides, associadas com a formação de um estado de pré-fotofosforilação de alta energia; e a redistribuição de energia de um PS II fortemente fluorescente para um PS I fracamente fluorescente (HETHERINGTON e SMILLIE, 1982). Desta forma, uma recuperação mais rápida de r_2 e de r_3 implica reabilitação na reoxidação de Q_A e aumento na energização do sistema tilacoidal, em consequência da reconstrução de um gradiente de prótons transmembrana e de um gradiente secundário de cátions metálicos (KRAUSE, 1974, 1978; KRAUSE *et al.*, 1982). Além disso, o restabelecimento desses parâmetros está relacionado com a reativação da assimilação do carbono, uma vez que a transição SM da curva de indução da fluorescência se refere ao advento da fixação de CO_2 (IRELAND *et al.*, 1984; WALKER, 1981). Em contrapartida, uma recuperação mais lenta de r_3 , refletido pelos baixos valores de M, pressupõe uma redução do potencial eletroquímico transmembrana e, conseqüentemente, diminuição da resistência ao fluxo de elétrons (TOIVONEN e VIDAVER, 1988). Supõe-se que o menor tempo de recuperação, associado com valores elevados de r_2 , apresentado pelo Catimor, venha confirmar a hipótese anterior de que o transporte fotossintético de elétrons é pouco afetado pela desidratação nesta progênie.

Nos diversos genótipos estudados, praticamente não houve variação nos valores de F_q durante todo o período de

reidratação, pois mantiveram-se em nível do controle (Quadro 8; Figura 26). Verificou-se a mesma tendência em relação aos valores de R_{fd} (Quadro 9; Figura 27). Ao contrário, os valores de $t_{\frac{1}{2}}$ permaneceram elevados e acima do controle durante as três primeiras horas de reidratação para os híbridos H-430 e H-421, ao passo que para a progênie de Catimor e para a linhagem de Catuaí somente a zero hora (Quadro 10; Figura 28). A partir daí, houve uma queda nos valores de $t_{\frac{1}{2}}$, inclusive abaixo do controle, em todos os genótipos.

Vários mecanismos, em nível de cloroplasto, são discutidos como estratégia de proteção da fotossíntese contra as condições desfavoráveis do ambiente (WEIS, 1981, 1985). Um destes mecanismos parece ser regulado pela dissipação térmica da energia de excitação de PS II, manifestada pela extinção não-fotoquímica da fluorescência, dependente de ΔpH (KRAUSE e BEHREND, 1986). A regulação da eficiência de PS II pela extinção não-fotoquímica pode ser realizada no sentido de diminuir a energia de excitação que atinge o centro de reação de PS II (WEIS e BERRY, 1987). A extinção dependente de ΔpH , ocasionada pelo aumento da desativação térmica dos estados excitados, pode ser causada por alterações estruturais na membrana, em razão à troca $H^+ - Mg^{2+}$ na superfície interna do tilacóide (KRAUSE et al., 1983). Além disso, tem-se observado uma relação positiva, embora freqüentemente não-linear, entre a eficiência quântica da fotossíntese e a extinção fotoquímica (HORTON e HAGUE, 1988; PETERSON et al., 1988; WEIS e BERRY, 1987).

QUADRO 8 - Capacidade de Extinção da Fluorescência (F_q) em Três Genótipos de Café Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	F_q (mV)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	725 A	783 A	790 A
3 h	843 A	765 A	740 A
6 h	753 A	783 A	633 A
12 h	800 A	663 A	678 A
24 h	683 B	878 A	580 B
48 h	800 A	773 A	499 B
96 h	858 A	858 A	693 A

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

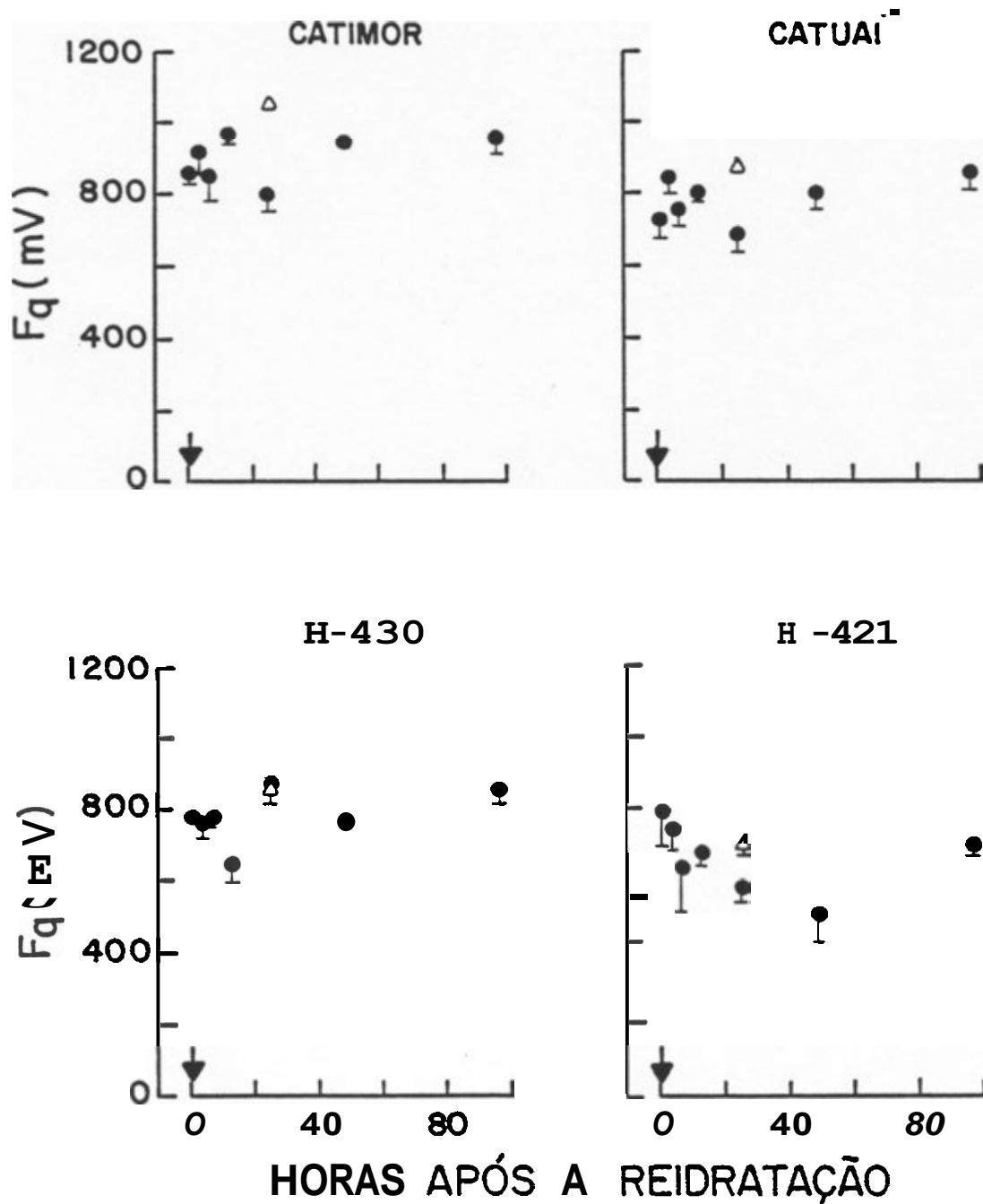


FIGURA 26 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Capacidades de Extinção da Fluorescência da Clorofila (F_q) de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle.

QUADRO 9 - Razão de Decrescimo da Fluorescência (R_{fd}) em Tres Genótipos de Cafe Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	R_{fd}		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	1,19 A	1,46 A	1,30 A
3 h	1,58 A	1,36 AB	1,04 B
6 h	1,31 A	1,37 A	0,99 A
12 h	1,47 A	1,34 A	1,18 A
24 h	1,26 AB	1,53 A	0,94 B
48 h	1,38 A	1,51 A	0,84 B
96 h	1,69 A	1,64 A	1,31 A

* As medias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

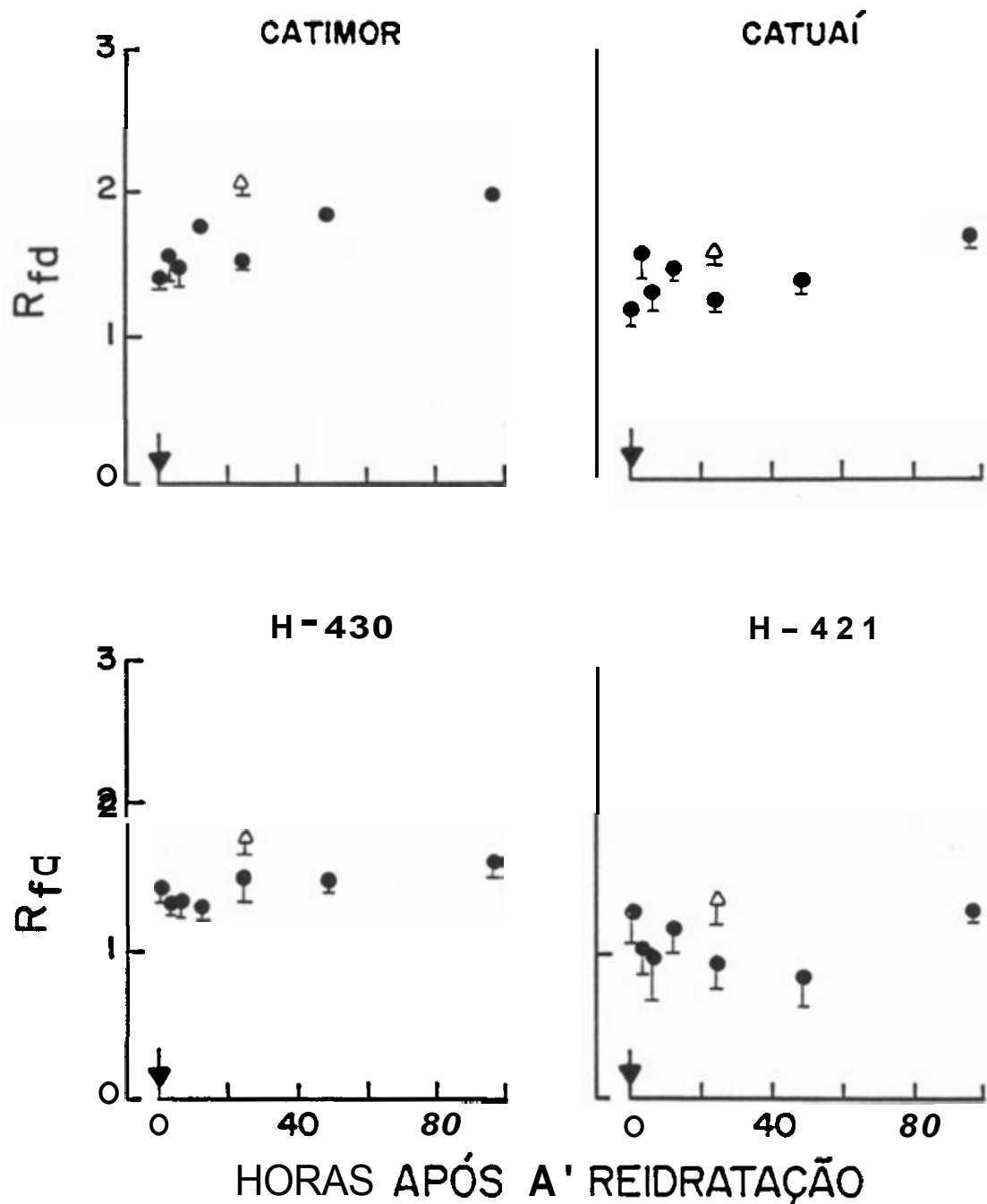


FIGURA 27 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação das Razões de Decréscimo da Fluorescência da Clorofila (R_{fd}) de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

QUADRO 10 - Tempo Necessário Para Atingir a Metade da Diferença entre F_D e F_t ($t_{\frac{1}{2}}$) em Três Genótipos de Cafe Durante o Período de Reidratação

Tempo de Reidratação	$t_{\frac{1}{2}}$ (s)		
	Catuaí	H - 430	H - 421
0 h	34,88 A	22,35 B	28,35 B
3 h	18,75 B	34,13 A	30,00 A
6 h	22,93 A	16,05 B	15,90 B
12 h	27,23 A	17,33 B	16,13 B
24 h	16,43 A	12,00 A	14,18 A
48 h	25,13 A	14,40 B	18,30 B
96 h	18,53 A	19,05 A	14,03 A

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

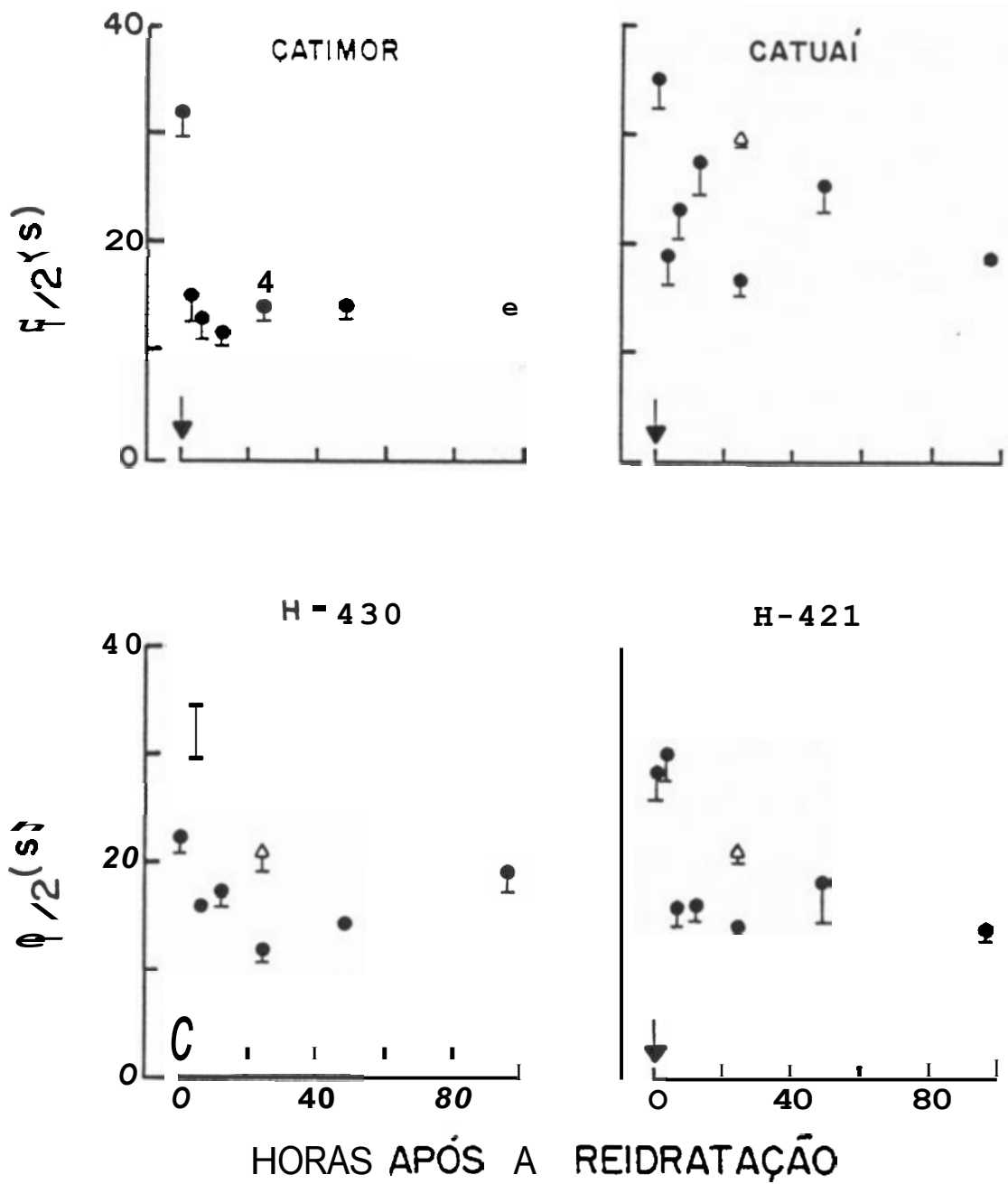


FIGURA 28 - Efeito da Deficiência Hídrica na Recuperação dos Tempos Necessários Para Atingir o Nível $(F_p - F_t)/2(t_{1/2})$ de Folhas de Café, Após a Reidratação. Os Símbolos e Barras Representam o Valor Médio de Quatro Repetições $\pm S(\hat{m})$. A Seta Indica o Momento da Reidratação e o Triângulo o Valor do Controle

Variações na extinção fotoquímica estão relacionadas com modificações na taxa de transporte acíclico de elétrons e associadas com o bombeamento de prótons através dos tilacóides (KRAUSE *et al.*, 1982). Existem evidências de que a extinção da fluorescência, dependente de energia, seja uma manifestação de um mecanismo regulatório designado a equiparar a taxa de transporte fotossintético de elétrons à capacidade do ciclo de Calvin em utilizar os produtos NADPH + H⁺ e ATP (DIETZ *et al.*, 1985; WEIS e BERRY, 1987). Como existe uma relação entre a estabilidade de R_{fd} e de $t_{1/2}$ e a das extinções fotoquímica e não-fotoquímica (EPRON e DREYER, 1990; STUHLFAUTH *et al.*, 1988), é provável que a manutenção de valores elevados de $t_{1/2}$, durante o período inicial de reidratação, esteja relacionada com alterações no fluxo de elétrons e na intensidade de desexcitação térmica de PS II, decorrentes do processo de desidratação. A recuperação mais rápida de $t_{1/2}$ para a progênie de Catimor e para a linhagem de Catuaí talvez esteja relacionada com a eficiência destes genótipos em restaurar, mais rapidamente, os possíveis danos ocasionados no aparelho fotossintético, em virtude da deficiência hídrica.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Com o aumento da densidade do fluxo radiante, a progênie de Catimor alcançou a maior taxa fotossintética potencial de $34,7 \mu\text{molO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, ao contrário do híbrido H-421, cuja taxa de $20,6 \mu\text{molO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ foi a menor entre os genótipos. Em contrapartida, o híbrido H-430 e a progênie de Catimor apresentaram os maiores valores de rendimento quântico de 0,086 e de 0,085 $\text{O}_2 \text{ fóton}^{-1}$, respectivamente, diferindo-se do menor valor que foi de $0,074 \text{ O}_2 \text{ fóton}^{-1}$, alcançado pela linhagem de Catuaí.

Com a desidratação, as taxas máximas de evolução fotossintética de oxigênio dos genótipos de café decresceram, em geral, gradualmente, a partir de potenciais hídricos de aproximadamente $-1,0 \text{ MPa}$ para os híbridos H-430 e H-421 e para a progênie de Catimor. Na linhagem de Catuaí, a queda ocorreu a partir de $-0,8 \text{ MPa}$.

Analisando-se as características das cinéticas de indução da fluorescência lenta da clorofila, durante a

desidratação, observou-se, aparentemente, que não houve perda de clorofila nos diversos genótipos estudados. Em contrapartida, o estresse hídrico provocou uma diminuição no fluxo de elétrons, através de PS I.

A desidratação não afetou fortemente o transporte fotossintético de elétrons da progênie de Catimor. O mesmo fato não aconteceu com os demais genótipos, principalmente com o híbrido H-421, cujo transporte se recuperou bem mais lentamente.

O híbrido H-430 apresentou provavelmente uma recuperação mais demorada da fotofosforilação oxidativa, em relação aos demais genótipos, após a reidratação, evidenciada pela lentidão no reaparecimento do pico M da cinética de indução da fluorescência lenta da clorofila.

Nos diversos genótipos de café estudados, as reações fotoquímicas de PS II e sua capacidade de reduzir o acceptor primário de elétrons não foram afetadas pela deficiência hídrica, visto que durante o período de reidratação os valores de F_p e F_t se mantiveram praticamente constantes.

O restabelecimento da fluorescência lenta da clorofila, de todos os genótipos, antecedeu o da fotossíntese, após a reidratação. Provavelmente, o estresse hídrico afetou outros processos, além do transporte de elétrons e da fotofosforilação oxidativa, o que acarretou um tempo maior de recuperação da capacidade de evolução fotossintética de oxigênio para os diversos genótipos de café.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS III, W.W.; DEMMIG-ADAMS, B.; WINTER, K. Relative contributions of zeaxanthin-unrelated types of "high-energy-state" quenching of chlorophyll fluorescence in spinach leaves exposed to various environmental conditions. *Plant Physiol.*, 92:302-309, 1990.
- AKUNDA, E.M.W. & KUMAR, D. A simple technique for timing irrigation in coffee using cobalt chloride paper disks. *Irrig. Sci.*, 3:57-62, 1981.
- BAKER, N.R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol. Plant.*, 81:563-570, 1991.
- BAKER, N.R.; EAST, T.M.; LONG, S.P. Chilling damage to photosynthesis in young *Zea mays*. II Photochemical function of thylakoids *in vivo*. *J. Exp. Bot.* 34:189-197, 1983.
- BARRS, H.D. Effect of cyclic variations in gas exchange under constant environmental conditions on the ratio of transpiration to net photosynthesis. *Physiol. Plant.*, 21:918-922, 1968.
- BERKOWITZ, G.A.; CHEN, C.; GIBBS, M. Stromal acidification mediates *in vivo* water stress inhibition of non-stomatal-controlled photosynthesis. *Plant Physiol.* 72:1123-1126, 1983.

- BERKOWITZ, G.A. & GIBBS, M. *In vitro* osmotic stress effects on the photochemistry of isolated spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, Suppl. 67:87, 1981.
- BERKOWITZ, G.A. & GIBBS, M. Effect of osmotic stress on photosynthesis studies with the isolated spinach chloroplast. Site specific inhibition of the photosynthetic carbon reduction cycle. *Plant Physiol.*, 70:1535-1540, 1982.
- BERKOWITZ, G.A. & GIBBS, A. Reduced osmotic potential inhibition of photosynthesis. Site-specific effects of osmotically induced stromal acidification. *Plant Physiol.*, 72:1100-1109, 1983b.
- BERKOWITZ, G.A. & GIBBS, A. Reduced osmotic potential effects on photosynthesis. Identification of stroma acidification as a mediating factor. *Plant Physiol.*, 71:905-911, 1983a.
- BERKOWITZ, G.A. & KROLL, K.S. Acclimation of photosynthesis in *Zea mays* to low water potentials involves alterations in protoplast volume reduction. *Planta*, 175:374-379, 1988.
- BERRY, J. & BJÖRKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 31:491-543, 1984.
- BIERHUIZEN, J.F.; NUNES, M.A.; PLOEGMAN, C. Studies on productivity of coffee. 11. Effect of soil moisture on photosynthesis and transpiration of *Coffea arabica* L. *Acta Bot. Neerl.*, 18:367-374, 1969.
- BJÖRKMAN, O. & DEMMIG, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170:489-504, 1987.
- BJÖRKMAN, O. & POWLES, S.B. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta*, 161:490-504, 1984.
- BOAG, S. & PORTIS, A.R. Inhibited light-activation of fructose and sedoheptulose biphosphatase in spinach chloroplasts exposed to osmotic stress. *Planta*, 160:33-40, 1984.

- BOYER, J.S. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiol.*, 46:233-235, 1970a.
- BOYER, J.S. Differing sensitivity of photosynthesis to low leaf water potentials in corn and soybean. *Plant Physiol.*, 46:236-239, 1970b.
- BOYER, J.S. Nonstomatal inhibition of photosynthesis in sunflower at low leaf water potentials and high light intensities. *Plant Physiol.*, 48:532-536, 1971a.
- BOYER, J.S. Recovery of photosynthesis in sunflower after a period of low leaf water potential. *Plant Physiol.*, 47:816-820, 1971b.
- BOYER, J.S. Water deficits and photosynthesis. In: T.T. Kozłowski (ed.). *Water Deficits and Plant Growth*. Vol. 4, Academic Press, New York, 1976. p.153-190.
- BOYER, J.S. & BOWEN, B.L. Inhibition of oxygen evolution in chloroplasts isolated from leaves with low water potentials. *Plant Physiol.*, 45, 612-615, 1970.
- BRADBURY, M. & BAKER, N.R. A quantitative determination of photochemical and non-photochemical quenching during the slow phase of the chlorophyll fluorescence induction curve of bean leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, 765:275-281, 1984
- BRADBURY, M.; IRELAND, C.R.; BAKER, N.R. An analysis of the chlorophyll-fluorescence transients from pea leaves generated by changes in atmospheric concentrations of CO₂ and O₂. *Biochim. Biophys. Acta*, 806:357-365, 1985.
- BRIANTAIS, J.-M.; VERNOTTE, C.; PICAUD, M.; KRAUSE, G.H. A quantitative study of the slow decline of chlorophyll *a* fluorescence in isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 548:128-138, 1979.
- BRIX, H. The effect of water stress on the rates of photosynthesis and respiration in tomato plants and loblolly pine seedlings. *Physiol. Plant.*, 15:10-20, 1962.
- BUNCE, J.A. Nonstomatal inhibition of photosynthesis at low water potentials in intact leaves of species from a variety of habitats. *Plant Physiol.*, 59:348-350, 1977.

- BUTLER, W.L. & KITAJIMA, M. Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **376**:116-125, 1975.
- CHAVES, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.*, **42**:1-16, 1991.
- CONROY, J.P.; SMILLIE, R.M.; KUPPERS, M.; BEVEGE, D.I.; BARLOW, E.W. Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic and growth responses of *Pinus radiata* to phosphorus deficiency, drought stress and high CO₂. *Plant Physiol.*, **81**:423-429, 1986.
- CORNIC, G.; LE GOUALLEC, J.L.; BRIANTAIS, J.M.; HODGES, M. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Elastostema repens* (Lour.) Hall f.). *Planta*, **177**:84-90, 1989.
- CRITCHLEY, C. The molecular mechanism of photoinhibition - facts and fiction. *Aust. J. Plant Physiol.*, **15**:27-41, 1988.
- CRITCHLEY, C. & SMILLIE, R.M. Leaf chlorophyll fluorescence as an indicator of photoinhibition in *Cucumis sativus* L. *Aust. J. Plant Physiol.*, **8**:133-141, 1981.
- DA MATTA, F.M. Alguns aspectos das relações hídricas em cultivares de *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. Viçosa, Universidade Federal, 1991. 45p. (Tese M.S.).
- DAIE, J. & WYSE, R.E. Evidence on the mechanism of enhanced sucrose uptake at low cell turgor in leaf discs of *Phaseolus coccinius*. *Physiol. Plant.*, **64**:547-552, 1985.
- DELIEU, T. & WALKER, D.A. Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytol.*, **89**:165-178, 1981.
- DELIEU, T.J. & WALKER, D.A. Simultaneous measurement of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence from leaf pieces. *Plant Physiol.*, **73**:534-541, 1983.
- DEMMIG, B. & BJÖRKMAN O. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77 K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta*, **171**:171-184, 1987.

- DEMMIG, B.; WINTER, K.; KRUGER, A.; CZYGAN, F.-C.
Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves.
Plant Physiol., 84:218-224, 1987.
- DI MARCO, G.; MASSACCI, A.; GABRIELLI, R. Drought effects on
photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars
grown in the field. *Physiol. Plant.*, 74:385-390, 1988.
- DIETZ, K.-J.; NIEMANIS, S.; HEBER, U. Rate limiting factors
in leaf photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 767:444-
450, 1984.
- DIETZ, K.-J.; SCHREIBER, U.; HEBER, U. The relationship
between the redox state of Q_A and photosynthesis in leaves
at various carbon-dioxide, oxygen and light regimes.
Planta, 166:219-226, 1985.
- DOWNTON, W.J.S. Osmotic adjustment during water stress
protects the photosynthetic apparatus against
photoinhibition. *Plant Sci. Lett.*, 30:137-143, 1983.
- DOWNTON, W.J.S. & MILLHOUSE, J. Chlorophyll fluorescence and
water relations of salt-stressed plants. *Plant Sci. Lett.*,
37:205-212, 1985.
- DREYER, E.; BOUSQUETE, F.; DUCREY, M. Use of pressure-volume
curves in water relation analysis on woody shoots:
influence of rehydration and comparison of four European
oak species. *Ann. Sci. For.*, 47:285-297, 1990.
- EHLERINGER, J. & BJÖRKMAN, O. Quantum yields for CO_2 uptake
in C_3 and C_4 plants. Dependence on temperature CO_2 and O_2
concentrations. *Plant Physiol.*, 59:86-90, 1977.
- ELSTNER, E.F. Oxygen activity and oxygen toxicity, *Annu.
Rev.. Plant Physiol.*, 33:73-96, 1982.
- EPRON, D. & DREYER, E. Stomatal and non stomatal limitation
of photosynthesis by leaf water deficits in three oak
species: A comparison of gas exchange and chlorophyll a
fluorescence data. *Ann. Sci. For.*, 47:435-450, 1990.
- EPRON, D. & DREYER, E. Effects of severe dehydration on leaf
photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.). *Liebl.;*
photosystem II efficiency, photochemical and
nonphotochemical fluorescence quenching and electrolyte
leakage. *Tree Physiol.*, 10:273-284, 1992.

- FARQUHAR, G.D. & SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **33**:317-345, 1982.
- FARQUHAR, G.D.; CAEMMERER, S. von; BERRY, J.A. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*, **149**:78-90, 1980.
- FELLOWS, R.J. & BOYER, J.S. Structure and activity of chloroplasts of sunflower leaves having various water potentials. *Planta*, **132**:229-239, 1976.
- FOX, T.C. & GEIGER, D.R. Osmotic response of sugar beat leaves at CO₂ compensation point. *Plant Physiol.*, **80**:239-241, 1985.
- FRY, K.E. Inhibition of ferricyanide reduction in chloroplasts prepared from water-stressed cotton leaves. *Crop Sci.*, **12**:698-701, 1972.
- FURBANK, R.T. & BADGER, M.R. Oxygen exchange associated with electron transport and photophosphorylation in spinach thylakoids. *Biochim. Biophys. Acta*, **723**:400-409, 1983.
- GENTY, B. ; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, **990**:87-92, 1989.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; DA SILVA, J.B.V. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.*, **83**:360-364, 1987.
- GENTY, B.; HARBINSON, J.; BAKER, N.R. Relative quantum efficiencies of the two photosystems of leaves in photorespiratory and non-photorespiratory conditions. *Plant Physiol. Biochem.*, **28**:1-10, 1990.
- GIERSCH, C. & ROBINSON, S.P. Effects of photoinhibition on photosynthetic carbon metabolism in intact isolated spinach chloroplasts. *Aust. J. Plant Physiol.*, **14**:439-449, 1987.

- GOLBERG, A.D.; RENARD, C.; LANNOYE, R.; LEDENT, J.-F.
Effects and after-effects of water stress on chlorophyll fluorescence transients in *Coffea canephora* Pierre and *Coffea arabusta* Capot and Aké Assi. *Café Cacao Thé*, 32:11-16, 1988.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 133 ed. Piracicaba, São Paulo, Nobel, 1990. 467p.
- GOVINDJEE; DOWNTON, W.J.S.; FORK, D.C.; ARMOND, P.A.
Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of water potential of leaves. *Plant Sci. Lett.*, 20:191-194, 1981 .
- GRAAN, T. & BOYER, J.S. Very high CO₂ partially restores photosynthesis in sunflower a low water potentials. *Planta*, 181:378-384, 1990.
- GRAZIANI, Y. & LIVNE, A. Dehydration, water fluxes, and permeability of tobacco leaf tissue. *Plant Physiol.*, 48:575-579, 1971 .
- GREER, D.H.; BERRY, J.A.; BJÖRKMAN, O. Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: role of light and temperature, and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery. *Planta*, 168:253-260, 1986.
- GROSS, K. & PHAM-NGUYEN, T. Pressure-volume analysis on shoot of *Picea abies* and leaves of *Coffea liberica* at various temperatures. *Physiol. Plant.*, 70:189-195, 1987.
- HARBINSON, J.; GENTY, B.; BAKER, N.R. Relationship between the quantum efficiencies of photosystems I and II in pea leaves. *Plant Physiol.*, 90:1029-1034, 1989.
- HEBER, U.; EGNEUS, H.; HANCK, U.; JENSEN, M.; KÖSTER, S. Regulation of photosynthetic electron transport and phosphorylation in intact chloroplasts and leaves of *Spinacia oleracea* L. *Planta*, 143:41-49, 1978.
- HETHERINGTON, S.E.; HALLAM, N.D.; SMILLIE, R.M. Ultrastructural and compositional changes in thylakoids of leaves of *Borya nitida* during humidity-sensitive degreening. *Aust. J. Plant Physiol.*, 9:601-609, 1982.

- HETHERINGTON, S.E. & SMILLIE, R.M. Humidity-sensitive degreening and regreening of leaves of *Borya nitida* Labill as followed by changes in chlorophyll fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.*, 9:587-599, 1982.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water-culture methods for growing plants without soil. *Univ. Calif. Agric. Exp., Circ.* 347, 1950. p.347.
- HOLMGREN, P.; JARVIS, P.G.; JARVIS, M.S. Resistences to carbon dioxide and water vapour transfer in leaves of different plant species. *Physiol. Plant.*, 18:557-571, 1965.
- HORTON, P. Control of chloroplast electron transport by phosphorylation of thylakoid proteins. *FEBS Lett.*, 152:47-52, 1983.
- HORTON, P. & HAGUE, A. Studies of the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. *Biochim. Biophys. Acta.*, 932:107-115, 1988.
- HORTON, P. & LEE, P. Phosphorylation of chloroplast membrane proteins partially protects against photoinhibition. *Planta.*, 165:37-42, 1985.
- HSIAO, T.C. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 24:519-570, 1973.
- ILJIN, W.S. Drought resistance in plants and physiological processes. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 8:225-274, 1957.
- ITAI, C. & ROTH-BEJERANO, N. The effect of abscisic acid on epidermal cells: protoplast swelling and ATPase activity. *Physiol. PLant.*, 66:664-668, 1986.
- IRELAND, C.R.; LONG, S.P.; BAKER, N.R. The relationship between carbon dioxide fixation and chlorophyll a fluorescence during induction of photosynthesis in maize leaves at different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Planta.*, 160:550-558, 1984.
- JOHNSON, R.R. & MOSS, D.N. Effect of water stress on ^{14}C fixation and translocation in wheat during grain filling. *Crop Sci.*, 16:697-701, 1976.

- JOHNSON-FLANAGAN, A.M. & SINGH, J. Membrane deletion during plasmolysis in hardened and non-hardened plant cells. *Plant Cell Environ.*, 9:299-305, 1986.
- JOLLIFFE, P.A. & TREGUNNA, E.B. Effect of temperature, CO₂ concentration, and light intensity on oxygen inhibition of photosynthesis in wheat leaves. *Plant Physiol.*, 43:902-906, 1968.
- JOLLIFFE, P.A. & TREGUNNA, E.B. Environmental regulation of the oxygen effect on apparent photosynthesis in wheat. *Can. J. Bot.*, 51:841-853, 1973.
- JONES, H.G. Photosynthesis by thin leaf slices in solution 11. Osmotic stress and its effects on photosynthesis. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26:25-33, 1973.
- JONES, H.G. & OSMOND, C.B. Photosynthesis by thin leaf slices in solution. I. Properties of leaf slice and comparison with whole leaves. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26:15-24, 1973.
- JONES, M.M. & TURNER, N.C. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiol.*, 61:122-126, 1978.
- JOSIS, P.; NDAYISHIMIYE, V.; RÉNARD, C. étude des relations hydriques chez *Coffea arabica* L. 11. Evaluation de la résistance à la sécheresse de divers cultivars h Ghisa (Burundi). *Cafe Cacao Thé*, 27:275-282, 1983.
- KAISER, W.M. Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplast volume in leaf tissue from hygro-, meso- and xerophytes under osmotic stress. *Planta*, 154:538-545, 1982.
- KAISER, W.M. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.*, 71:142-149, 1987.
- KAISER, W.M. & HEBER, U. Photosynthesis under osmotic stress. Effect of high solute concentrations on the permeability properties of the chloroplast envelope and on activity of stroma enzymes. *Planta*, 153:423-429, 1981.

- KAISER, W.M.; KAISER, G.; SCHÖNER, S.; NEIMANIS, S.
Photosynthesis under osmotic stress. Differential recovery of photosynthetic activities of stroma enzymes, intact chloroplasts, protoplasts, and leaf slices after exposure to high solute concentrations. *Planta*, **153**:430-435, 1981.
- KASAMO, K. Effect of abscisic acid on membrane-bound epidermal ATPase from tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.*, **20**:293-300, 1979.
- KECK, R.W. & BOYER, J.S. Chloroplast response to low leaf water potentials. III Differing inhibition of electron transport and photophosphorylation. *Plant Physiol.*, **53**:474-479, 1974.
- KRAUSE, G.H. Changes in chlorophyll fluorescence in relation to light-dependent cation transfer across thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **333**:301-313, 1974.
- KRAUSE, G.H. Effects of uncouplers on Mg^{2+} -dependent fluorescence quenching in isolated chloroplasts. *Planta*, **138**:73-78, 1978.
- KRAUSE, G.H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.*, **74**:566-574, 1988.
- KRAUSE, G.H. & BEHREND, U. ΔpH -Dependent chlorophyll fluorescence quenching indicating a mechanism of protection against photoinhibition of chloroplasts. *FEBS Lett.*, **200**:298-301, 1986.
- KRAUSE, G.H.; BRIANTAIS, J.-M.; VERNOTTE, C.
Characterization of chlorophyll fluorescence quenching in chloroplasts by fluorescence spectroscopy at 77 K. I. ΔpH -dependent quenching. *Biochim. Biophys. Acta*, **723**:169-175, 1983.
- KRAUSE, G.H.; VERNOTTE, C.; BRIANTAIS, J.M. Photoinduced quenching of chlorophyll fluorescence in intact chloroplasts and algae. Resolution into two components *Biochim. Biophys. Acta*, **679**:116-124, 1982.
- KRAUSE, G.H.; LAASCH, H.; WEIS, E. Regulation of thermal dissipation of absorbed light energy in chloroplast indicated by energy-dependent fluorescence quenching. *Plant Physiol. Biochem.*, **26**:445-452, 1988.

- KRAUSE, G.H. & WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42:313-349, 1991.
- KUMAR, D. & TIESZEN, L.L. Photosynthesis in *Coffea arabica* L. 11. Effect of water stress. *Expl. Agric.* 16:21-27, 1980.
- LAASCH, H. Non-photochemical quenching of chlorophyll a fluorescence in isolated chloroplasts under conditions of stressed photosynthesis. *Planta*, 171:220-226, 1987.
- LE GOUALLEC, J.L. & CORNIC, G. Photoinhibition of photosynthesis in *Elatostema repens*. *Plant Physiol. Biochem.*, 26:705-715, 1988.
- LURIE, S. & HENDRIX, D.L. Differential ion stimulation of plasmalemma adenosine triphosphatase from leaf epidermis and mesophyll of *Nicotiana rustica* L. *Plant Physiol.*, 63:936-939, 1979.
- MATTHEWS, M.A. & BOYER, J.S. Acclimation of photosynthesis to low leaf water potentials. *Plant Physiol.*, 74:161-166, 1984.
- MCPHERSON, H.G. & BOYER, J.S. Regulation of grain yield by photosynthesis in maize subjected to a water deficiency. *Agron. J.*, 69:714-718, 1977.
- MEINZER, F.C.; GRANTZ, D.A.; GOLDSTEIN, G.; SALIENDRA, N.Z. Leaf water relations and maintenance of gas exchange in coffee cultivars grown in drying soil. *Plant Physiol.*, 94:1781-1787, 1990.
- MIRANDA, V.; BAKER, N.R.; LONG, S.P. Limitations of photosynthesis in different regions of the *Zea mays* leaf. *New Phytol.*, 89:179-190, 1981.
- MOHANTY, P. & BOYER, J.S. Chloroplast response to low water potentials. IV. Quantum yield is reduced. *Plant Physiol.*, 57:704-709, 1976.
- MORGAN, J.M. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35:299-319, 1984.

- MUNNS, R. & WEIR, R. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.*, 8:93-105, 1981.
- NIR, I. & POLJAKOFF-MAYBER, A. Effect of water stress on the photochemical activity of chloroplasts. *Nature*, 213:418-419, 1967.
- NUNES, M.A. Resistência à secura em *Coffea arabica* L. 111. Estudo comparativo das seleções S.795, Geisha, S4 Agaro e Caturra. *Port. Acta Biol.*, 13:143-156, 1974.
- NUNES, M.A. Water relations in coffee. Significance of plant water deficits to growth and yield: A review. *J. Coffee Res.*, 6:4-21, 1976.
- NUNES, M.A. & DUARTE, N.T. Resistência à Secura em *Coffea arabica*. Estudo comparativo de duas seleções. *Est. Agron.*, 10:75-85, 1969.
- NUNES, M.A. Environmental effects on the stomatal and mesophyll regulation of photosynthesis in coffee leaves *Photosynthetica*, 22:547-553, 1988.
- OGAWA, T. Simple oscillations in photosynthesis of higher plants. *Biochim. Biophys. Acta*, 681:103-109, 1982.
- ÖGREN, E. & BAKER, N.R. Evaluation of a technique for the measurement of chlorophyll fluorescence from leaves exposed to continuous white light: technical report. *Plant Cell Environ.*, 8:539-547, 1985.
- ÖGREN, E. & ÖQUIST, G. Effects of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition susceptibility in intact willow leaves. *Planta*, 166:380-388, 1985.
- OHAD, ■ - KYLE, D.J.; ARNTZEN, C.J. Membrane protein damage and repair: removal and replacement of inactivated 32 - kilodalton polypeptides in chloroplast membranes. *J. Cell. Biol.*, 99:481-485, 1984.
- OXBOROUGH, K. & HORTON, P. A study of the regulation and function of energy-dependent quenching in pea chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 934:135-143, 1988.

PAVLIK, B.M. Seasonal changes of osmotic pressure, syplasmic water content and tissue elasticity in the blades of dune grasses growing *in situ* along the cost of Oregon. *Plant Cell Envir.*, 7:531-539, 1984.

PETERSON, R.B. Effects of irradiance on the *in vivo* CO₂:O₂ specificity factor in tobacco using simultaneous gas exchange and fluorescence techniques. *Plant Physiol.*, 94:892-898, 1990.

PETERSON, R.B.; SIVAK, M.N.; WALKER, D.A. Relationship between steady state fluorescence yield and photosynthetic efficiency in spinach leaf tissue. *Plant Physiol.*, 88:158-163, 1988.

PIER, P.A. & BERKOWITZ, G.A. Modulation of water stress effects on photosynthesis by altered leaf K⁺. *Plant Physiol.*, 85:655-661, 1987.

PLAUT, Z. Inhibition of photosynthetic carbon dioxide fixation in isolated spinach chloroplasts exposed to reduced osmotic potentials. *Plant Physiol.*, 48:591-595, 1971.

PLAUT, Z. & BRAVDO, B. Response of carbon dioxide fixation to water stress. Parallel measurements on isolated chloroplasts and intact spinach leaves. *Plant Physiol.*, 52:28-32, 1973.

POWLES, S.B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35:15-44, 1984.

POWLES, S.B. & BJÖRKMAN, O. Photoinhibition of photosynthesis: effect on chlorophyll fluorescence at 77 K in intact leaves and in chloroplast membranes. *Planta*, 156:97-107, 1982.

POWLES, S.B. & CRITCHLEY, C. The effect of light intensity during growth on photoinhibition of intact bean leaflets. *Plant Physiol.*, 65:1181-1187, 1980.

POWLES, S.B.; OSMOND, C.B.; THORNE, S.W. Photoinhibition of intact attached leaves of C₃ plants illuminated in the absence of both carbon dioxide and of photorespiration. *Plant Physiol.*, 64:982-988, 1979.

- QUICK, W.P.; SIEGL, G.; NEUHAUS, E.; FEIL, R.; STITI, M. Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose phosphate synthase. *Planta*, **177**:535-547, 1989.
- RAWSON, H.M.; BEGG, J.E.; WOODWARD, R.G. The effect of atmospheric humidity on photosynthesis, transpiration and water use efficiency of leaves of several plant species. *Planta*, **134**:5-10, 1977.
- REES, D. & HORTON, P. The mechanisms of changes in photosystem II efficiency in spinach thylakoids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1016**:219-227, 1990.
- RITCHIE, G.A. & SHULA, R.G. Seasonal changes of tissue water relations in shoots and root system of douglas-fir seedlings. *For. Sci.*, **30**:538-548, 1984.
- ROBINSON, S.P. The involvement of stromal ATP in maintaining the pH gradient across the chloroplast envelope in the light. *Biochim. Biophys. Acta*, **806**:187-194, 1985.
- ROBINSON, S.P.; DOWNTON, W.J.S.; MILLHOUSE, J.A. Photosynthesis and ion content of leaves and isolated chloroplasts of salt-stressed spinach. *Plant Physiol.*, **73**:238-242, 1983.
- ROBINSON, S.P.; STREUSAND, V.J. CHATFIELD, J.M.; PORTIS, A.R. Purification and assay of Rubisco activase from leaves. *Plant Physiol.*, **88**:1008-1014, 1988.
- RODRIGUES, O. Efeito da deficiência hídrica na fotossíntese, na resistência estomática, na atividade da redutase do nitrato e no acúmulo de prolina livre em *Coffea arabica* L. Viçosa, Universidade Federal, 1988. 52p. (Tese M.S.).
- RÜHLE, W. & WILD, A. The intensification of absorbance changes in leaves by light-dispersion. *Planta*, **146**:551-557, 1979.
- SANTAKUMARI, M. & BERKOWITZ, G.A. Correlation between maintenance of photosynthesis and *in situ* protoplast volume at low water potentials in droughted wheat. *Plant Physiol.*, **92**:733-739, 1990.

- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.;
HEMMINGSSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. *Science*,
148:339-346, 1965.
- SCHWAB, K.B.; SCHREIBER, U.; HEVER, U. Response of
photosynthesis and respiration of resurrection plants to
desiccation and rehydration. *Planta*, 177:217-227, 1989.
- SEEMANN, J.R. & SHARKEY, T.D. The effect of abscisic acid
and other inhibitors on photosynthetic capacity and the
biochemistry of CO₂ assimilation. *Plant Physiol.*, 84:696-
700, 1987.
- SEN GUPTA, A. & BERKOWITZ, G.A. Osmotic adjustment, symplast
volume, and nonstomataly mediated water stress inhibition
of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.*, 85:1040-1047,
1987.
- SEN GUPTA, A. & BERKOWITZ, G.A. Chloroplast osmotic
adjustment and water stress effects on photosynthesis.
Plant Physiol., 88:200-206, 1988.
- SEN GUPTA, A.; BERKOWITZ, G.A.; PIER, P.A. Maintenance of
photosynthesis at low leaf water potential in wheat. Role
of potassium status and irrigation history. *Plant
Physiol.*, 89:1358-1365, 1989.
- SHARKEY, T.D. & BADGER, M.R. Effects of water stress on
photosynthetic electron transport, photophosphorylation
and metabolite levels of *Xanthium strumarium* mesophyll
cells. *Planta*, 156:199-206, 1982.
- SHARKEY, T.D. Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants:
physics, physiology and rate limitations. *Bot. Rev.*,
51:53-105, 1985.
- SIFFELL, P.; DURCHAN, M.; KUETON, J.; ONDREJ, M.; SESTAK, Z.
Photosynthesis in regenerants of tobacco transformed by
plasmids of *Agrobacterium*. 11. Fluorescence emission
spectra and age induced changes in slow fluorescence
induction. *Photosynthetica*, 22:214-220, 1988.
- SIVAK, M. & WALKER, D.A. Chlorophyll a fluorescence: can it
shed light on fundamental questions in photosynthetic
carbon dioxide fixation? *Plant Cell Environ.*, 8:439-448,
1985.

- SMILLIE, R.M. & NOTT, R. Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence *in vivo*. *Plant Physiol.*, 70:1049-1054, 1982.
- SOMERSALO, S. & KRAUSE, G.H. Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold-acclimated spinach leaves in the field. A fluorescence study. *Physiol. Plant.*, 79:617-622, 1990.
- STEWART, C.R. Effect of wilting on carbohydrates during incubation of excised bean leaves in the dark. *Plant Physiol.*, 48:792-794, 1971.
- STITT, M. Limitation of photosynthesis by carbon metabolism. I. Evidence for excess electron transport capacity in leaves carrying out photosynthesis in saturating light and CO₂. *Plant Physiol.*, 81:1115-1122, 1986.
- STUHLFAUTH, T.: SÜLTEMEYER, D.F.: WEINZ, S.: FOCK, H.P. Fluorescence quenching and gas exchange in a water stressed C3 plant, *Digitalis lanata*. *Plant Physiol.*, 86:246-250, 1988.
- THORNE, J.H. & KOLLER, H.R. Influence of assimilate demand on photosynthesis, diffusive resistance, translocation, and carbohydrate levels of soybean leaves. *Plant Physiol.*, 54:201-207, 1974.
- THORNLEY, J.H.M. *Mathematical models in plant physiology* London, Academic Press. 318p. 1976.
- TOIVONEN, P. & VIDAVER, W. Variable chlorophyll *a* fluorescence and CO₂ uptake in water stress white spruce seedlings. *Plant Physiol.*, 86:744-748, 1988.
- TURNER, N.C. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13:175-190, 1986.
- TURNER, N.C. & BEGG, J.E. Plant-water relations and adaptation to stress. *Plant Soil*, 58:97-131, 1981.
- TURNER, N.C.; BEGG, J.E.; TONETT, M.L. Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to water deficits and its influence on the water potential at which stomata close. *Aust. J. Plant Physiol.*, 5:597-608, 1978.

- TURNER, L.B. & WELLBURN, A.R. Changes in adenylate nucleotide levels in the leaves of *Capsicum annuum* during water stress. *J. Plant Physiol.*, **120**:111-122, 1985.
- VASSEY, T.L. & SHARKEY, T.D. Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity. *Plant Physiol.*, **89**:1066-1070, 1989.
- CAEMMERER, S. von & FARQUHAR, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, **153**:376-387, 1981.
- VU, J.C.V.; ALLEN JR., L.H.; BOWES, G. Drought stress and elevated CO₂ effects on soybean ribulose biphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiol.*, **83**:573-578, 1987.
- VU, J.C.V. & YELENOSKY, G. Water deficit and associated changes in some photosynthetic parameters in leaves of "Valencia" orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.). *Plant Physiol.*, **88**:375-378, 1988.
- WALKER, D.A. Secondary fluorescence kinetics of spinach leaves in relation to the onset of photosynthetic carbon assimilation. *Planta*, **153**:273-278, 1981.
- WALKER, D.A.; SIVAK, M.N.; PRINSLEY, R.T.; CHEESBROUGH, J.K. Simultaneous measurement of oscillations in oxygen evolution and chlorophyll *a* fluorescence in leaf pieces. *Plant Physiol.*, **73**:542-549, 1983.
- WEIS, E. Reversible heat-inactivation of the Calvin-cycle: a possible mechanism of the temperature regulation of photosynthesis. *Planta*, **151**:33-39, 1981.
- WEIS, E. Light and temperature induced changes in the distribution of excitation energy between photosystem I and photosystem II in spinach leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, **807**:118-126, 1985.
- WEIS, E. & BERRY, J.A. Quantum efficiency of photosystem II in relation to energy dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, **894**:198-208, 1987.

WILTENS, J.; SCHREIBER, U.; VIDAVER, W. Chlorophyll fluorescence induction: an indicator of photosynthetic activity in marine algae undergoing desiccation. *Can. J. Bot.*, **56**:2787-2794, 1978.

YAMAGUCHI, T. & FRIEND, D.J.C. Effect of leaf age and irradiance on photosynthesis of *Coffea arabica*. *Photosynthetica*, **13**:271-278, 1979.

YOUNIS, H.M.; BOYER, J.S.; GOVINDJEE. Conformation and activity of chloroplast coupling factor exposed to low chemical potential of water in cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **548**:328-340, 1979.