

ANTELMO RALPH FALQUETO

**CRESCIMENTO, FOTOSSÍNTESE E PARTIÇÃO
DE ASSIMILADOS EM GENÓTIPOS DE ARROZ
IRRIGADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin

Co-orientadores: Prof. Dr. Antonio Costa de Oliveira
Dr. Ariano Martins de Magalhães Jr.

PELOTAS, 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

F196c Falqueto, Antelmo Ralph

Crescimento, fotossíntese e participação de assimilados em genótipos de arroz irrigado / Antelmo Ralph Falqueto . - Pelotas, 2008.

103f. : graf. e tab.

Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2008, Marcos Antonio Bacarin, Orientador; co-orientadores Ariano Martins de Magalhães Júnior e Antonio Costa de Oliveira.

1.Oryza sativa L. 2. Fluorescência da clorofila 3. Eficiência fotoquímica 4. taxa de evolução do Oxigênio I Bacarin, Marcos Antonio (orientador) II .Magalhães Júnior, Ariano Martins (Co-orientador) III. Oliveira, Antonio Costa de (Co-orientador) IV. Título.

CDD 633.18

**CRESCIMENTO, FOTOSSÍNTESE E PARTIÇÃO DE ASSIMILADOS
EM GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

APROVADA: 07 de março de 2008

Prof^o Dr. José Antônio Peters

Prof^a Dra. Diolina Moura Silva

Prof^o Dr. Antônio Costa de Oliveira
(Co-orientador)

Dr. Ariano M. de Magalhães Jr.
(Co-orientador)

Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin
(Orientador)

“Na acepção latina, como na grega, meta significa tanto o mérito ao final de uma jornada, como o que ainda está mais adiante. Talvez por isso é que, na vida, nunca nos seja dado saber em que medida uma conquista é um fim ou é apenas um novo começo”.
(Eduardo Couture)

Aos meus amigos, pela presença, companheirismo, encorajamento e alegria!

*Aos meus pais Josélia e Antelmo,
Pelo apoio, estímulo e compreensão em todos os momentos em que estivemos distantes!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua presença, por Sua luz, por Suas graças.

Agradeço aos meus adorados pais Josélia e Antelmo, pelas palavras de apoio, pela força, por suportarem a distância, por nunca terem deixado de estar ao meu lado, mesmo estando longe dos meus olhos. *Vocês são as pessoas mais maravilhosas e corajosas que já conheci! As mais carinhosas e lindas do mundo!*

Aos meus queridos Adelke, Virgínia, Sonidéia, Geovane, pelo carinho sempre constante, pelo encorajamento, pela força e palavras de incentivo nas horas de pouca fé. E aos meus pequenos Henrique e Geovanna, minhas maiores inspirações! Minha maior saudade!

Aos demais familiares, por sempre torcerem pelo meu sucesso.

Um agradecimento especial ao grande Mestre Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin, pelos valiosos ensinamentos, por sua amizade, por sua confiança e apoio sempre constantes durante a orientação deste trabalho.

*“...Manda dizer-te que foi porque teu exemplo convenceu.
Houve alguém que venceu... e manda dizer-te que foi porque
tuas lições permaneceram...” (autor desconhecido)*

À querida amiga e companheira de trabalho Daniela Cassol, por sua grande contribuição na realização deste trabalho, pela amizade sincera, pelo companheirismo e encorajamento.

Agradeço aos pesquisadores Dr. Ariano Martins de Magalhães Júnior e ao Prof. Dr. Antônio Costa de Oliveira, não somente pela preciosa e indispensável colaboração no desenvolvimento deste trabalho, mas também pela amizade e respeito sempre despendidos.

À Professora Dr^a Diolina Moura Silva (Depto. de Biologia - Universidade Federal do Espírito Santo) pelas valiosas críticas e sugestões que, certamente, contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos professores Dr. Dario Munt de Moraes e Dr. Nei Fernandes Lopes, pela saudável convivência, pelo respeito, confiança e pelos valiosos ensinamentos!

Gratidão eterna aos professores Dr. José Antônio Peters, Dr^a Eugenia Jacira Bolacel Braga e Dr. Valmor João Bianch, pois, além dos grandes ensinamentos, da amizade e do respeito dedicados, não relutaram em depositar total confiança e apoiar-me durante minha permanência no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas. *Vocês fizeram uma grande diferença!*

Agradeço a todos os funcionários do Departamento de Botânica, especialmente à Sra. Suzi Braga, pela atenção e imenso carinho dedicados.

Aos amigos da pós-graduação, pela grande e sincera amizade, companhia, pelos risos, abraços, pelas palavras de apoio! Cada um seguirá o seu caminho, talvez em direções opostas... Em mim permanece a certeza de que a vida nos proporcionará muitos reencontros!

“Se alguma coisa me consome e me envelhece é que a roda furiosa da vida não me permite ter sempre ao meu lado, morando comigo, andando comigo, falando comigo, vivendo comigo, todos os meus amigos, e, principalmente os que só desconfiam ou talvez nunca vão saber que são meus amigos!” (Vinicius de Moraes)

Aos grandes amigos Berilo e Roger, pelo companheirismo, pela alegria! Qualquer palavra seria pouca para representar o significado da nossa agradável convivência!

Agradeço à Sra. Ernestina pela convivência tão agradável e alegre, por sua amizade e por seu carinho especial! Por todos os Natais e aniversários que passamos juntos!

À Universidade Federal de Pelotas, especialmente ao Departamento de Botânica, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro destinado à execução deste trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta obra.

*“Aos que se tornaram familiares, aos que nasceram familiares
e aos que conheci antes de ontem;
Aos que me deixaram louco e aos que enlouqueci;
Aos que me criticaram em tudo e a um ou outro que aturou minha “chatura”;
Aos amigos que passaram e aos que se estagnaram em mim;
Aos que me consideram muito e aos que com razão fizeram pouco;
Aos que conhecem o que penso e aos que só conhecem o que faço;
Aos que passam o dia todo comigo e aos que estão o tempo todo em mim.
Este trabalho é a soma de todos vocês. E se não é melhor, é por falta de memória,
mas não por falta de amigos”.*
(Efraim Rodrigues)

BIOGRAFIA

ANTELMO RALPH FALQUETO, filho de José Antelmo Falqueto e Josélia Maria Magnago Falqueto, nasceu em Nova Venécia-ES, aos dois dias do mês de agosto de 1979.

Cursou o ensino fundamental e o médio em Nova Venécia-ES. Ingressou, na Universidade Federal do Espírito Santo, Campus de São Mateus-ES em 1997, licenciando-se em Ciências Biológicas em novembro de 2001. Iniciou o curso de Mestrado em Biologia Vegetal na mesma Universidade, Campus de Goiabeiras, Vitória-ES, em março de 2003, concluindo-o em fevereiro de 2005.

Em março de 2005, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, onde desenvolveu sua tese de Doutorado, concluída em março de 2008.

ÍNDICE

	Página
Sumário	ix
Summary	xi
Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas	5
Artigo 1 – Photosynthetic capacity related to historical rice cultivars released since 1900	10
Artigo 2 – Oxygen evolution rate of rice cultivars.....	24
Artigo 3 – Influência da adubação nitrogenada nas características da fluorescência da clorofila em arroz	28
Artigo 4 – Características da fluorescência da clorofila em cultivares de arroz com ciclo precoce, médio e tardio	32
Artigo 5 – Chlorophyll fluorescence in two rice cultivars with differences in grain yield potential	36
Artigo 6 – Physiological analysis of two rice cultivars (<i>Oryza sativa</i> L.) with yield potential differences based on chlorophyll fluorescence measurements	54
Artigo 7 – Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) diferindo no potencial de produção de grãos.....	65
Considerações finais	89

SUMÁRIO

FALQUETO, Antelmo Ralph, D.S., Universidade Federal de Pelotas, março de 2008. **Crescimento, Fotossíntese e Partição de Assimilados em genótipos de Arroz Irrigado**. Professor Orientador: Dr. Marcos Antonio Bacarin, Co-orientadores: Dr. Antonio Costa de Oliveira e Dr. Ariano Martins de Magalhães Junior.

Neste estudo foram avaliadas características fotossintéticas de genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado. Também foram avaliadas quanto às características de crescimento e de partição de assimilados cultivares com produtividade contrastante, BRS Pelota (maior produção de grãos) e BRS Firmeza (menor produção de grãos). Nenhuma correlação entre a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) e o ano de liberação foi observada entre as diferentes cultivares. Entretanto, entre 1900-1960, um declínio na eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (F_v'/F_m') e na eficiência quântica efetiva da conversão da energia de excitação no fotossistema II (Φ_{PS2}) foi observado e sua recuperação após 1960 foi consistente com a maior produção de grãos. Diferenças na taxa de evolução do oxigênio também foram expressivas entre os genótipos, especialmente na linhagem estéril IR58025A em relação a sua linhagem fértil IR58025B. Nas cultivares com produtividade contrastante, o conteúdo de clorofila foi mantido por no mínimo 15 dias em BRS Firmeza (fenótipo *stay green*), o que refletiu na manutenção dos valores de F_v/F_m e F_s/F_o . Reduções significativas no conteúdo de clorofila, F_v/F_m e F_s/F_o foram nítidas apenas no

estádio final de enchimento de grãos, com diferenças significativas entre a folha bandeira e a segunda, terceira e quarta folhas. Decréscimos nos parâmetros da fluorescência da clorofila em estado adaptado à luz (F_v'/F_m' , Φ_{PS2} e *quenching* fotoquímico - q^P) também ocorreram e foram muito claras principalmente após o florescimento em ambas as cultivares. Seus valores foram sempre maiores para a cultivar BRS Firmeza, refletindo a presença dos genes *stay green*, o qual é responsável pelo retardo na senescência das folhas. Os valores da relação F_s/F_o , indicadores da capacidade assimilatória de CO_2 , foram positivamente correlacionados com os valores de F_v/F_m e F_v'/F_m' e negativamente correlacionados com q^N (*quenching* não-fotoquímico). Com relação às características de crescimento e de partição de assimilados, a cultivar BRS Pelota apresentou maior acúmulo de matéria seca (W_t) ao final do ciclo, maior área foliar (A_f) e maior alocação de matéria seca para o colmo + bainha e panículas. O componente de produção de maior expressão no rendimento foi o número de panículas. Assim, a maior produtividade de BRS Pelota pode estar relacionada à maior área foliar e duração da área foliar, permitindo o fornecimento de elevada quantidade de fotoassimilados por um período maior.

SUMMARY

FALQUETO, Antelmo Ralph, D.S., Federal University of Pelotas, March, 2008.
Growth, Photosynthesis and Assimilate Partitioning of Irrigated Rice Genotypes.
Advisor: Dr. Marcos Antonio Bacarin, Comitê: Dr. Antonio Costa de Oliveira and Dr. Ariano Martins de Magalhães Junior.

In this study, photosynthetic characteristics of irrigated rice (*Oryza sativa* L.) genotypes were evaluated. It were also evaluated with relation to growth and assimilates partitioning characteristics rice cultivars differing in yield potential, BRS Pelota (higher yield) and BRS Firmeza (lower yield). No correlation between maximum efficiency of PS2 photochemical (F_v/F_m) and year of release was observed among cultivars. However, between 1900-1960, a decline in effective efficiency of PS2 photochemistry (F_v'/F_m') and effective quantum yield of photochemical energy conversion (Φ_{PS2}) was observed and their recover after 1960 was consistent with a higher yield potential. Differences in maximal O_2 evolution rate also were expressive between genotypes, especially, in the sterile line IR58025A when compared to the normal fertility found in IR58025B line. In those rice cultivars differing in yield, the chlorophyll content was maintained by at least 15 days in BRS Firmeza (*stay green* phenotype), which reflected in the maintaining of F_v/F_m and F_s/F_o values. Significant reductions in chlorophyll content, F_v/F_m and F_s/F_o were clear only at grain filling stage, which showed significant differences between flag and the 2nd, 3th and 4th leaves. Decreasing in

the chlorophyll fluorescence parameters in high-adapted state (F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and photochemical *quenching* - q^P) also occurred and they were more clear mainly after the flowering stage in both cultivars. Their values were always higher in BRS Firmeza rice cultivar, reflecting the presence of *stay green* genes, which are responsible for a delay in leaf senescence. The F_s/F_o ratio values, a CO₂ assimilatory capacity indicator, were positively correlated to F_v/F_m and F_v'/F_m' values and negatively correlated to q^N (non-photochemical *quenching*). In relation to growth and assimilates partitioning characteristics, plants of the BRS Pelota rice cultivar showed higher total dry matter accumulated (W_t) at end of life cycle, higher leaf area (A_f) and higher dry matter allocated toward culm + sheath and panicles. The yield component which presented higher relevance for yield was the panicle number. Thus, the higher grain yield of BRS Pelota could be related to a higher leaf area and leaf area duration, which permits the providing of elevated quantity of photoassimilates by higher period time.

INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais cereais consumidos pela população mundial e sua produção representa cerca de 30% da produção mundial de grãos (He et al., 2006; Yadav & Jindal, 2008; Luangmalawat et al., 2008). Atualmente, aproximadamente 90% do arroz mundial são produzidos e consumidos pelos países asiáticos, como a China, Índia, Indonésia, Filipinas e Tailândia (Jongdee et al., 2006; Luangmalawat et al., 2008). A produção de grãos na China, por exemplo, considerada pioneira no seu cultivo e comercialização, corresponde a 45% da produção total naquele país (Tao et al., 2008).

O Brasil aparece entre os 10 países de maior produção de arroz, segundo dados publicados pela Embrapa (2005). Dentre os Estados brasileiros produtores deste cereal, o Rio Grande do Sul destaca-se como o maior produtor nacional e sua participação na produção brasileira atinge cerca de 49,5% do total produzido, correspondente a aproximadamente 5.146.595 toneladas/ano (Embrapa, 2005), sendo esta oriunda, na sua maioria, de sistema de cultivo irrigado (Magalhães Junior, et al., 2003).

Populações de países em desenvolvimento encontram no consumo de arroz cerca de 70% da demanda calórica total requerida, o que certamente justifica a importância que a cultura assume nestes países (Takai et al., 2006). Neste sentido, considerando o aumento crescente da população mundial, tornar-se imprescindível a geração de novos métodos para elevar a produção de arroz em cerca de 50% dentro de um período de tempo relativamente curto (Horton,

2000; Zang & Kokubun, 2004). Felizmente, o aumento na produção global de grãos tem se favorecido graças à expansão das áreas de cultivo, à modernização dos métodos de irrigação, ao uso de fertilizantes, inseticidas e pesticidas, e às tecnologias de geração de variedades híbridas com alta capacidade de produção (Masumoto et al., 2004).

Entre estas técnicas, a geração de variedades geneticamente melhoradas e de híbridos com alta produtividade é de grande significado para o aumento da produção de arroz. O desenvolvimento de híbridos representa um dos maiores avanços tecnológicos para o melhoramento genético de plantas e depende de um método de esterilização do pólen que não altere a fertilidade do gameta feminino (Coimbra et al., 2006). A adoção do sistema de esterilidade genético citoplasmática, o qual envolve três linhas (macho estéril, linha mantenedora e linha restauradora da fertilidade), tornou possível introduzir genótipos híbridos com alta produtividade (Zhang & Kokubun, 2004; Coimbra et al., 2006).

O aumento da produtividade é determinado pela capacidade das plantas em produzir fotoassimilados. Neste sentido, o aumento da capacidade fotossintética tem sido intensivamente considerado uma vez que a fotossíntese é o processo inicial para a produção de biomassa (Jiang et al., 2000). Segundo Lawlor (1995), a produção de biomassa pode ser acrescida por meio de alterações da duração do crescimento da cultura, da sua taxa de crescimento ou ambos, uma vez que estes processos estão diretamente relacionados à fotossíntese e à eficiência de absorção da energia luminosa.

A luz absorvida pelos fotossistemas pode ser utilizada para as reações fotossintéticas ou dissipada por alguns mecanismos, tais como a transferência de energia entre pigmentos, a liberação de energia na forma de calor e a emissão de fluorescência (Krause & Weis, 1991). Algum esforço tem sido direcionado na identificação de diferenças na emissão da fluorescência da clorofila *a* entre genótipos de arroz. Jiang e colaboradores (2002) evidenciaram uma associação entre a eficiência de absorção da energia luminosa, medida por meio da produção da fluorescência da clorofila *a* e capacidade de produção de grãos. Estes autores observaram maiores valores da eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m)

em arroz híbrido de alta produtividade. Analogamente, aumentos na taxa fotossintética [avaliada como a taxa de evolução do oxigênio ($\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)] foram relatados em plantas de arroz com citoplasma estéril e em diferentes cultivares lançadas comercialmente até os anos 60 (Sasaki & Ishii, 1992; Kato et al., 2004; Zhang & Kokubum, 2004; Hubbart et al., 2007), indicando que o fornecimento de capacidade fotossintética, seja ela por meio da elevação da eficiência de utilização da energia luminosa ou da otimização das reações bioquímicas da fotossíntese, tem ocorrido com o avanço das técnicas de melhoramento de cultivares de alta produtividade (Jiang et al., 2002). Ainda dentro desse contexto, mudanças nos parâmetros da fluorescência durante a senescência foram investigadas por Jiao e colaboradores (2003) em diferentes cultivares de arroz de origem *japônica* e *indica* revelando um maior decréscimo da eficiência fotoquímica ao longo do desenvolvimento das plantas nas cultivares *indica*. Assim, com base na interpretação dessas características fotossintéticas, os autores sugeriram a seleção das cultivares *japônica* ou de uma linha estéril com genótipo *japônica* como planta-mãe (fêmea estéril) para uso em programas de melhoramento genético visando aumento da produtividade.

Desde que a relação entre as reações luminosas da fotossíntese e a fluorescência da clorofila *a* emergiu, esta técnica passou a ser extensivamente utilizada como uma eficiente ferramenta na investigação das reações de transporte de elétrons dirigidas pela luz no complexo proteína-pigmento do fotossistema II e tem se tornado um importante tema de pesquisas na fisiologia vegetal (Yamane et al., 2000; Misra et al., 2001; Panda et al., 2006), como a caracterização de cultivares de trigo (Jiang et al., 2000; Jiang & Xu, 2000), soja (Braga et al., 2006; Huang et al., 2006; Bernal et al., 2007), feijão (Zanandrea et al., 2006), cevada (Jiang et al., 2006) e arroz (Jiang et al., 2002; Lidon et al., 2004; Wang et al., 2005). O estudo da fluorescência tem permitido a aquisição de importantes informações à cerca dos processos de dissipação fotoquímica e não-fotoquímica da energia de excitação que ocorrem nas membranas dos tilacóides em presença de luz (Krause & Weis, 1991; Roháček, 2002), o que, indubitavelmente, poderia ser de grande utilidade na identificação e compreensão

dos contrastes morfofisiológicos existentes em diferentes genótipos e na determinação das características fotossintéticas que contribuem para uma maior produtividade, possibilitando, assim, seu emprego na seleção de materiais genéticos promissores (Jiang et al., 2002; Wang et al., 2005; Kumagai et al., 2007).

Considerando o contexto acima, este estudo teve por objetivo investigar características fotossintéticas e de crescimento em genótipos de arroz irrigado, visando traçar relações entre a produtividade e eficiência de absorção da energia de excitação, bem como avaliar o uso dessas características como indicadoras de ganho fotossintético de cultivares melhoradas geneticamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNAL, M.; CASES, R.; PICOREL, R.; YRUELA, I. Foliar and root Cu supply affect differently Fe- and Zn-uptake and photosynthetic activity in soybean plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.60, n.2, p.145-150, 2007.
- BRAGA, M. R.; AIDAR, M. P. M.; MARABESI, M. A.; GODOY, J. R. L. D. Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.58, n.1, p.85-92, 2006.
- COIMBRA, J. L. M.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; FAGUNDES, P. R. R.; KOPP, M. M. Heterose em arroz híbrido. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.3, p.257-264, 2006.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Cultivo de Arroz irrigado no Brasil: Sistemas de Produção 3**, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/cap05.htm>. Acesso em 20 NOV 2007.

- HE, H.; PENG, X.; GONG, H.; ZHU, C.; YE, G. Fertility behaviour of rice (*Oryza sativa*) lines with dominant male sterile gene and inheritance of sterility and fertility restoration. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.98, n.1, p.30-38, 2006.
- HORTON, P. Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. **Journal of Experimental Botany**, London, v.51, n.2, p.475-485, 2000.
- HUANG, L. F.; ZHENG, J. H.; ZHANG, Y. Y.; HU, W. H.; MAO, W. H.; ZHOU, Y. H.; YU, J. Q. Diurnal variations in gas exchange, chlorophyll fluorescence quenching and light allocation in soybean leaves: The cause for midday depression in CO₂ assimilation. **Scientiae Horticulturae**, Leuven, v.110, n.2, p.214-218, 2006.
- HUBBART, S.; PENG, S.; HORTON, P.; CHEN, Y.; MURCHIE, E. H. Trends in leaf photosynthesis in historical rice varieties developed in the Philippines since 1966. **Journal of Experimental Botany**, London, v.58, n.12, p.3429-3438, 2007.
- JIANG, C. D.; GAO, H. Y.; ZOU, Q. Characteristics of photosynthetic apparatus in Mn-starved leaves. **Photosynthetica**, Praha, v.40, n.2, p.209-213, 2002.
- JIANG, C.-D.; JIANG, G.-M.; WANG, X.; LI, L.-H.; BISWAS, D. K.; LI, Y.-G. Increased photosynthetic activities and thermostability of photosystem II with leaf development of elm seedling (*Ulmus pumila*) probed by the fast fluorescence rise OJIP. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.58, n.3, p.261-268, 2006.
- JIANG, G. M.; GAO, N. B.; BAI, K. Z.; ZHANG, Q. D.; SUN, J. Z.; GUO, R. J.; GE, Q. Y.; KUANG, T. Y. Chain correlation between variables of gas exchange and yield potential in different winter wheat cultivars. **Photosynthetica**, Praha, v.38, n.2, p.227-232, 2000.
- JIANG, H.; WANG, X.-H.; DENG, Q.-Y.; YUAN, L.-P.; XU, D.-Q. Comparison of some photosynthetic characters between two hybrid rice combinations

- differing in yield potential. **Photosynthetica**, Praha, v.40, n.1, p.133-137, 2002.
- JIANG, H.; XU, D.-Q. Physiological basis of the difference in net photosynthetic rate of leaves between two maize strains. **Photosynthetica**, Praha, v.38, n.2, p.199-204, 2000.
- JIAO, D., JI, B., LI, X. Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice. **Photosynthetica**, Praha, v.41, n.1, p.33-41, 2003.
- JONGDEE, B.; PANTUWAN, G.; FUKAI, S.; FISCHER, K. Improving drought tolerance in rainfed lowland rice: An example from Thailand. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.80, n.1, p.225-240, 2006.
- KATO, M., KOBAYASHI, K., OGISO, E., YOKOO, M. Photosynthesis and Dry-Matter Production during Ripening Stage in a Female-Sterile Line of Rice. **Plant Production Science**, Tokyo, v.7, n.2, p.184-188, 2004.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis – the basics. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.313-349, 1991.
- KUMAGAI, E.; ARAKI, T.; KUBOTA, F. Effects of nitrogen supply restriction on gas exchange and photosystem 2 function in flag leaves of a traditional low-yield cultivar and a recently improved high-yield cultivar of rice (*Oryza sativa* L.). **Photosynthetica**, Praha, v.45, n.4, p.489-495, 2007.
- LAWLOR, D. W. Photosynthesis, productivity and environment. **Journal of Experimental Botany**, London, v.46, n.10, p.1449-1461, 1995.
- LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G.; RAMALHO, J. C. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.161, n.11, p.1235-1244, 2004.
- LUANGMALAWAT, P.; PRACHAYAWARAKORN, S.; NATHAKARANAKULE, A.; SOPONRONNARIT, S. Effect of temperature

- on drying characteristics and quality of cooked rice. **Food Science and Thecnology: LWT**, Zurich, v.41, n.4, p.716-723, 2008.
- MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; GOMES, A. S. **Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003, 77p.
- MASUMOTO, C., ISHII, T., KATAOKA, S., HATANAKA, T., UCHIDA, N. Enhancement of Rice Leaf Photosynthesis by crossing between Cultivated Rice, *Oryza sativa* and Wild Rice Species, *Oryza rufipogomn*. **Plant Production Science**, Tokyo, v.7, n.3, p.252-259, 2004.
- MISRA, A. N.; SRIVASTAVA, A.; STRASSER, R. J. Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and Brassica seedlings. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.158, n.9, p.1173-1181, 2001.
- PANDA, D.; RAO, D. N.; SHARMA, S. G.; STRASSER, R. J.; SARKAR, R. K. Submergence effects on rice genotypes during seedlings stage: Probing of submergence driven changes of photosystem 2 by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients. **Photosynthetica**, Praha, v.44, n.1, p.69-75, 2006.
- ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, Praha, v.40, n.1, p.13-29, 2002.
- SASAKI, H.; ISHII, R. Cultivar differences in leaf photosynthesis of rice bred in Japan. **Photosynthesis research**, Hague, v.32, n.2, p.139-146, 1992.
- TAKAI, T.; MATSUURA, S.; NISHIO, T.; PHSUMI, A.; SHIRAIWA, T.; HORIE, T. Rice yield potential is closely related to crop growth rate during late reproductive period. **Field crops research**, Amsterdam, v.96, n.3, p.328-335, 2006.
- TAO, F.; HAYASHI, Y.; ZHANG, Z.; SAKAMOTO, T.; YOKOZAWA, M. Global warming, rice production, and water use in China: Developing a

- probabilistic assessment. **Agricultural and forest meteorology**, Amsterdam, v.148, n.1, p.94-110, 2008.
- WANG, Q. A.; LU, C. M.; ZHANG, Q. D. Midday photoinhibition of two newly developed super-rice hybrids. **Photosynthetica**, Praha, v.43, n.2, p.277-281, 2005.
- YADAV, B. K.; JINDAL, V. K. Changes in head rice yield and whiteness during milling of rough rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Food Engineering**, Essex, v.86, n.1, p.113–121, 2008.
- YAMANE, Y.; SHIKANAI, T.; KASHINO, Y.; KOIKE, H.; SATON, K. Reduction of Q_A in the dark: Another cause of fluorescence F_0 increases by high temperatures in higher plants. **Photosynthesis Research**, Hague, v.63, n.1, p.23-34, 2000.
- ZANANDREA, I.; BACARIN, M. A.; SCHMITZ, D. D.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A. Chlorophyll fluorescence in *in vitro* cultivated apple. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.3, p.305-308, 2006.
- ZHANG, W.-H.; KOKUBUM, M. Historical Changes in Grain Yield and Photosynthetic Rate of Rice Cultivars Released in the 20th Century in Tohoku Region. **Plant Production Science**, Tokyo, v.7, n.1, p.36-44, 2004.

Artigo 1

**Photosynthetic capacity related to historical rice
cultivars released since 1900**

Antelmo Ralph Falqueto, Daniela Cassol, Ariano Martins de Magalhães Júnior,
Antônio Costa de Oliveira, Marcos Antonio Bacarin

[Submetido à publicação no periódico *Field Crops Research* (ISSN 0378-4290),
Amsterdam, Holanda, 2007]

Photosynthetic capacity related to historical rice cultivars released since 1900

Antelmo Ralph Falqueto^{a1}, Daniela Cassol^a, Ariano Martins de Magalhães Júnior^b, Antônio Costa de Oliveira^c, Marcos Antonio Bacarin^a

^a Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas-RS, Brazil.

^b Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado. 96001970, Pelotas-RS, Brazil.

^c Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96010900, Pelotas/RS, Brazil.

Abstract

Changes in Chl fluorescence characteristics and photosynthetic rate were investigated in forty rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. The experiments were conducted in controlled conditions, in order to determine the dark-adapted photochemical efficiency of PS2 (F_v/F_m) and photosynthetic rate, estimated as a maximum O_2 evolution rate [$\mu\text{mol } (O_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] and in field conditions, to determination of Chl fluorescence parameters in light-adapted state (F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and q^P), canopy height and grain yield. F_v/F_m was considered an intrinsic physiological characteristic which did not change by breeding. In contrast, there was a significant variation in OER between rice cultivars, but the relationship between this photosynthetic parameter and year of release was not significant. A decrease in F_v'/F_m' and Φ_{PS2} values was observed in all rice cultivars released between 1900-1960, with the subsequent recovery to higher levels in these cultivars released after 1960s. This result suggests the use of F_v'/F_m' and Φ_{PS2} as selection parameters to obtain increases in biomass production. The higher photochemical efficiency of PS2 in cultivars developed after 1960s was consistent with a higher grain yield, which was related to lower canopy height. Rather it is indicated that breeding caused improvements in photosynthetic capacities from indirect manner, considering that the mainly objective of breeding techniques application is improving others plant characteristics, such as higher panicle number/height, shorter plant stature and higher biomass production.

Key words: canopy height, grain yield, oxygen evolution rate, photochemical efficiency of PS2.

¹ Corresponding author; fax: +55 53 3275 7169, e-mail: bacarin@ufpel.edu.br

Abbreviations: Chl – chlorophyll; PS2 – photosystem 2; F_v/F_m – maximal efficiency PS2 photochemistry measured in dark-adapted state; F_v'/F_m' – effective efficiency of PS2 photochemistry measured in light-adapted state; q^P – photochemical quenching of Chl fluorescence; Φ_{PS2} – effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 in light-adapted state; OER – oxygen evolution rate.

1. Introduction

The main goals of rice production systems is the optimization of grain yield (Koutroubas and Ntanos, 2003). As with many other crop species, the major improvements in rice yield potential in the past have included breeding to alter morphological and physiological traits (canopy architecture and harvest index) which ultimately improve the efficiency of resource capture (Hubbart et al., 2007). However, those mechanisms utilized to improve rice yield potential in the past are now close to optimization and that future improvements will arise from an improvement in total biomass production (Horton, 2000). Although there are any factors that affect biomass production, the efficiency with which solar radiation is transformed into biomass is one the most important (Sharma-Natu and Ghildiyal, 2005).

Some studies have been recognized that photosynthetic capacity of agricultural crops must be improved in order to increase the biomass production rate and yield potential (Horton, 2000; Zhang et al., 2006). Improvements in rice photosynthetic capacity have been resulted by plant breeding (Sasaki and Ishii, 1992; Zhang and Kokubum, 2004; Hubbart et al., 2007). Thus, improvements in both photosynthetic and light interception capacity by the canopy results in higher yield potential of crop species (Zhang and Kokubum, 2004). Several studies have shown that flag leaf photosynthesis improvement is positively correlated with release years of rice cultivars, which suggests that improvements of leaf photosynthesis have occurred with the breeding advances (Sasaki and Ishii, 1992; Murchie et al., 2002; Masumoto et al., 2004; Zhang and Kokubun, 2004; Hubbart et al., 2007).

During the photosynthesis, photon energy absorbed by plant is converted into chemical forms, NADPH and ATP, and then used for CO₂ assimilation. The ability of photon energy conversion in plant is mainly reflected in photochemical reactions, which can be determined by the non-invasive and rapid Chl fluorescence measurement (Roháček, 2002). Evidence exists that increased absorption and use of light forms the basis for an increase in canopy CO₂ fixation and productivity. Then, studying the historical variations in Chl fluorescence could allow the understanding of physiological changes that were introduced through breeding. Thus, the objective of the present study was to evaluate the changes in Chl fluorescence characteristics

and photosynthetic rate in rice genotypes released in different historical periods from 1900 to 2005.

2. Materials and methods

2.1. Experiment in greenhouse conditions

Controlled experiment was conducted to investigate the dark-adapted photochemical efficiency of PS2 (F_v/F_m) and the photosynthetic rate, determined as a maximum O_2 evolution rate according Bacarin et al. (2008). Forty rice cultivars (*Oryza sativa* L.), released in different historical periods from 1900 to 2005, were used as the experimental materials. The measurements of Chl fluorescence and photosynthetic rate were conducted in 2005 and 2006 during the rice growing season from October to March in greenhouse conditions situated at Federal University of Pelotas, Brazil. For the experimental design, a completely randomized one was used. The seeds were sown in plastic pots (12 L) filled with soil fertilized according to official guidelines (Sosbai, 2007). Twenty-five seeds were sown in each pot. In order to obtain uniform plants, the seedlings of each pot were thinned from 20-25 to 5 per pot after the appearance of the second leaf. Water depth of 3 to 5 cm was maintained in each pot. All the measurements were performed on the first or second fully expanded leaves counted from the top of the plant at vegetative stage [growth stage correspond to V_{10} , according to Counce et al. (2000)].

2.2. Experiment in field conditions

Field experiment was conducted at Experimental Field of the Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. The same forty rice cultivars established in greenhouse conditions were used in this experiment. All rice cultivars were arranged in a completely randomized block design with 4 replications. Plots consisted of 6 rows 17.5 cm apart. The final plant density achieved in the field was 60 plants per linear meter. The field was flooded for 1 day before sowing and the water maintained between 5 and 10 cm deep until rice grains reached physiological maturity. Sowing was performed directly in the field on November 2005 and 2006.

Weeds, insects and diseases were controlled as required to avoid yield loss. Chl fluorescence measurements were made on the first or second fully expanded leaves without pre-dark adaptation counted from the top of the plant at vegetative and grain filling stages [growth stage corresponding to V₁₀ and R₇, respectively, according to Counce et al. (2000)]. F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and q^P were simultaneously determined with a modulated fluorescence monitor system *FMS-2* (*Hansatech*, UK). Application of a saturating pulse on leaves enabled to determine maximum F_m' and F_o' . Then, F_v' was calculated by equation $F_v' = (F_m' - F_o')$. Thereafter, the effective efficiency of PS2 photochemistry (F_v'/F_m') was calculated. Photochemical quenching (q^P) and the effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 (Φ_{PS2}) were calculated as $q^P = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$ and $\Phi_{PS2} = (F_m' - F_s)/F_m'$, respectively (Roháček, 2002). Canopy height at the tip of the ear, was measured on five random plants per cultivar before harvest and grain yield was determined from a 5 m² area and adjusted to a moisture content of 0.13 ± 0.01 g H₂O g⁻¹ fresh weight.

2.3. Statistical analysis

In this experiment, median data were obtained for Chl fluorescence measures in order to represent the year release intervals, because the values did not obey the Gaussian distribution law or normal distribution (for more details about statistical properties of Chl fluorescence, see Lazar and Naus, 1998). OER, canopy height and grain yield data of cultivars were plotted as a function of their released year. For canopy height and grain yield, simple correlation coefficients were calculated.

3. Results and discussion

3.1. Maximum photochemical efficiency of PS2 and photosynthesis rate of rice cultivated in greenhouse conditions

No change was observed in maximal photochemical efficiency of PS2 (F_v/F_m) along of the years (data not show). The values of F_v/F_m ranged from 0.83 (BRS 6 Chuí) to 0.863 (BRS Carisma) and the mean value of F_v/F_m obtained for all cultivars was 0.849. F_v/F_m represents the maximum quantum yield of PS2 photochemistry and is often used as a characteristic of potential yield of PS2 photochemical reactions (Krause and Weis, 1991). The maximum value of F_v/F_m is almost constant (approximately

0.800-0.850) for many different plant species in the absence of stress (Björkman and Demming, 1987). Thus, from our result, we should conclude that yield improvements obtained with breeding did not alter F_v/F_m values.

In contrast, there was significant variation in OER between different rice cultivars during the period 1900-2005 (Figure 1). The cultivar BR Irga 410 (1980) showed the highest value ($55.4 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), followed by Chatinho (1931), Lemont (1971) and BR Irga 412 (1986), which also showed OER values higher than $50 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The cultivar Douradinho (1957) was characterized by the lowest OER value ($27.1 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). The mean value of photosynthetic rate was $42.01 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ for all cultivars and it is consistent with the results obtained under normal environmental for some *Oryza* species and various lines resulting from the crossing between *Oryza sativa* species (cultivated rice) and *Oryza rufipogon* (wild rice) in Japan (Masumoto et al., 2004; Bacarin et al., 2008).

Differences in net photosynthetic rate between rice cultivars have been reported in the literature. These studies, however, report differences in CO_2 fixation and RuBPCO content (Sasaki and Ishii, 1992; Murchie et al., 2002; Masumoto et al., 2004). Zhang and Kokubun (2004) reported that the net photosynthetic rate was lower in tropical japonica cultivars, growing in the field at the International Rice Research Institute farm (Philippines).

In addition, cultivars bred in Japan and released over the period 1882-1976 showed significant positive correlation between flag leaf net photosynthesis two weeks after heading and the year release of cultivars (Sasaki and Ishii, 1992). Other studies have shown that rice cultivars released after 1950s had higher photosynthetic rate per leaf area unit (Masumoto et al., 2004; Zhang and Kokubun, 2004). This finding indicates that the improvements of leaf photosynthesis have occurred with the advance of breeding high-yielding cultivars. However, in the present study, no significant correlation was obtained between OER and year of release of that rice cultivars released since 1900 (Fig. 2).

In rice, it has been reported that the photosynthetic capacity is associated with the amount of Rubisco and Rubisco activase (Fukayama et al., 1996). In addition, light and CO_2 -saturated photosynthesis is limited by Pi regeneration capacity. If Pi content decline enough, photophosphorilation can become inhibited, reducing ATP synthesis and in turn RuBP regeneration. This results in higher photorespiration levels, which may be an important process for energy dissipation to prevent photoinhibition (Shi-Wei

et al., 2007). As the activity of Rubisco activase and therefore Rubisco activation is dependent on the ATP production and electron transport, it is possible that the content of Rubisco activase closely correlates to photosynthetic capacity (Fukayama et al., 1996). Photosynthetic rate is not controlled by merely one enzyme or reaction. Stitt (1986) suggested that OERs in spinach leaves were limited by a capacity for sucrose synthesis under saturated light and CO₂, by restricting the rate at which inorganic phosphate can be recycled.

3.2. Effective photochemical efficiency of PS2 and yield of rice cultivated in field conditions

Figure 3 shows data for Chl fluorescence parameters measured in light adapted state for rice cultivars released over the period 1900-2005, grown under field conditions. Despite a large variation, no clear single trend in Chl fluorescence parameters could be identified over the 100 year period for different rice cultivars. However, if splitting the data into the two periods of yield improvement, such as originally pointed by Peng et al. (2000) and Hubbart et al. (2007), an intriguing picture emerges. A significant decline of F_v'/F_m' ($r = -0.97$, $p \leq 0.05$) and Φ_{PS2} ($r = -0.96$, $p \leq 0.05$) was observed in all rice cultivars released between 1900 and 1960 (Fig. 3a-b), but no significant correlation was observed in q^p values for the period 1900-2005 (Fig. 3c). Generally speaking, F_v'/F_m' and Φ_{PS2} represent the fraction of energy used for photosynthetic electron transport in thylakoid membranes of chloroplasts (Genty et al., 1989). Thus, from these results, we can observe that the rice cultivars released prior 1960s had lower photochemical energy conversion in PS2 than those released after. If that energy conversion had high efficiency, it should optimize the electron transport reactions through PS2, generating high ATP and NADPH levels, which should be used in biochemical reactions of photosynthesis. Recently, changes in maximum net photosynthesis (P_{max}) and leaf composition (Chl and Rubisco content and total protein) in rice cultivars were described by Hubbart et al. (2007). Analogously to our results with fluorescence, they observed a significant decline in P_{max} , stomatal conductance (g), Rubisco content, total leaf protein, and Chl content in all rice cultivars released prior 1980.

It is important to note that F_v'/F_m' and Φ_{PS2} recovered to higher levels in cultivars released after 1960 (Fig. 3a-b). It is suggested that an increase in

photochemical efficiency in rice is more likely to be observed in circumstances where an increase in biomass production dominates, like previously suggested by Hubbart et al. (2007). This shows that although Chl fluorescence parameters have not been used as a breeding criterion, they were increased after 1960, by selection. One suggestion to these striking results would be that they are related to morphology such as the increasing in total leaf area, which may involve a decreased investment per unit leaf area, resulting in a lower amount of photosynthetic components, i.e. more light capture and photosynthesis but over a larger leaf area (Sarquíz et al., 1998; Hubbart et al., 2007). The previous result successfully showed that, during the past 40 yr, rice breeding efforts have been directed towards incorporation of disease and insect resistance, earlier maturity, and improving grain quality, but not towards increasing of photosynthesis (Peng et al., 2000).

The rice cultivars also showed differences in grain yield (data not show). Averaged across years, Tetep and Supremo 1 had the lowest grain yield (3.807 kg ha^{-1}) and 108 Epagri and BRS Pelota the highest ($11.207 \text{ kg ha}^{-1}$), while IAC 4, Lemont, BR Irga 411, BR Irga 414, Rio Grande and BRS Colosso had moderate grain yield (average of 7.830 kg ha^{-1}). Besides, the linear regression analysis of grain yield against year of release ($r = 0.5$, $p \leq 0.05$) showed that historical cultivar yield trends occurred along the years (Fig. 4a). Thus, we estimated that the annual gain in rice yield was 5.855 kg ha^{-1} which is equivalent to an increase of approximately 55.8% in rice yield since 1900. However, when the data are separated into the two periods of yield improvement, we observed that cultivars developed between 1900 and 1960 (Agulha, Japonês Grande, Chatinho, Carolina and Douradinho) showed lower yield production than those cultivars developed between 1960 and 2005. The higher grain yield observed in those rice cultivars released after 1960 is consistent to increase in photochemical efficiency of PS2 in cultivars developed after that year (Fig 3a-b). Thus, it appears correct to affirm that some improvements in photosynthetic capacities have occurred with the advances of breeding, as previously related.

The apparent change in yield since 1960 is consistent with data from another author. Peng et al. (2000) registered the highest yield in rice cultivars released after 1960s grown at the International Rice Research Institute (IRRI) farm and the Philippine Rice Research Institute farm during the dry season of 1966. These authors analyzed some yield components and verified that cultivars developed between 1974 and 1983 produced more panicles, had low grain weight, higher tillering capacity, lower leaf area

index, lower total dry matter, higher harvest index (HI) and shorter stature than the old cultivars. In contrast, cultivars developed in recent years (1985-1995) were intermediate in tillering capacity, HI and canopy height (Peng et al., 2000). In our study, a significant correlation between grain yield and canopy height was also observed (Fig 4b). Shorter rice cultivars had higher grain yield (8.800 kg ha^{-1}) than tall cultivars (6.740 kg ha^{-1}). In five representative rice cultivars of *indica* and *japônica* group with different yield potential, the higher yield cultivars had shorter height than those tall cultivars, which were accompanied by more grains per panicle (Koutroubas and Ntanos, 2003).

4. Conclusions

The absence of genotypic variation since 1900s indicates that F_v/F_m and OER are intrinsic physiological characteristics which did not change along the years of breeding. In contrast, the recovery of photochemical efficiency after 1960s suggests the use of F_v'/F_m' and Φ_{PS2} values as selectable traits to obtain increase in biomass production of rice. Rather it is also indicated that breeding caused improvements in photosynthetic capacities from indirect manner, considering that the mainly objective of breeding techniques application is improving others plant characteristics, such as higher panicle number/height, shorter plant stature and higher biomass production. This idea was confirmed by our result, which showed that the higher PS2 photochemical efficiency of cultivars developed after 1960s was consistent with higher grain yield, which was related to lower canopy height of plants.

5. References

- Bacarin M.A., Falqueto A.R., Coimbra J.L.M., Oliveira A.C., Magalhães Jr, A.M., 2008. Oxygen evolution rate of rice cultivars. *Photosynthetica* 46, 148-150.
- Björkman, O., Demming, B., 1987. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- Counce, P.A., Keisling, T.C., Mitchell, A.J., 2000. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. *Crop Sci.* 40, 436-443.

- Fukayama, H., Uchida, N., Azuma, T., Yasuda, T., 1996. Relationships between photosynthetic activity and the amounts of Rubisco activase and Rubisco in rice leaves from emergence through senescence. *Jpn. J. Crop Sci.* 65, 296-302.
- Genty B., Briantais, J. M., Baker, N. R., 1989. The relationship between the quantum yield of the photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 990, 87-92.
- Horton, P., 2000. Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. *J. Exp. Bot.* 51, 475-485.
- Hubbart, S.; Peng, S.; Horton, P.; Chen, Y.; Murchie, E. H., 2007. Trends in leaf photosynthesis in historical rice varieties developed in the Philippines since 1966. *J. Exp. Bot.* 58, 3429-3438.
- Koutroubas, S.D., Ntanos, D.A., 2003. Genotypic differences for grain yield and nitrogen utilization in Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. *Field Crops Res.* 83, 251-260.
- Krause, G.H., Weis, E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.* 42, 313-349.
- Lazár, D., Naus, J., 1998. Statistical properties of chlorophyll fluorescence induction parameters. *Photosynthetica* 35, 121-127.
- Masumoto, C., Ishii, T., Kataoka, S., Hatanaka, T., Uchida, N., 2004. Enhancement of Rice Leaf Photosynthesis by crossing between Cultivated Rice, *Oryza sativa* and Wild Rice Species, *Oryza rufipogon*. *Plant Product. Sci.* 7, 252-259.
- Murchie, E.H., Yang, J., Hubbart, S., Horton, P., Peng, S., 2002. Are there associations between grain-filling rate and photosynthesis in the flag leaves of field-grown rice? *J. exp. Bot.* 53, 2217-2224.
- Peng, S., Laza, R. C., Visperas, R. M., Sanico, A. L., Cassman, K. G., Khush, G. S., 2000. Grain yield of rice cultivars and lines developed in the Philippines since 1996. *Crop Sci.* 40, 307-314.
- Roháček, K., 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* 40, 13-29.

- Sarquís, J. I., Gonzalez, H., Jiménez, E. S., Dunlap, J. R., 1998. Physiological traits associated with mass selection for improved yield in a maize population. *Field Crops Res.* 56, 239-246.
- Sasaki, H., Ishii, R., 1992. Cultivar differences in leaf photosynthesis of rice bred in Japan. *Photosynth. Res.* 32, 139-146.
- Sharma-Natu, P., Ghildiyal, M. C., 2005. Potential targets for improving photosynthesis and crop yield. *Current Sci.* 88, 1918-1928.
- Shi-Wei, G., Yi, Z., Ying-Xu, G., Yong L., Qi-Rong, S., 2007. New Insights into the Nitrogen Form Effect on Photosynthesis and Photorespiration. *Pedosphere* 17, 601–610.
- Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI). **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil.** Pelotas, RS: SOSBAI, 2007. 164p
- Stitt, M., 1986. 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.
- Zhang C.J., Chen G.X., Gao X.X., Chu C.J., 2006. Photosynthetic decline in flag leaves of two field-grown spring wheat cultivars with different senescence properties. *S. African J. Sci.* 72, 15-23.
- Zhang, W.-H., Kokubun, M., 2004 Historical changes in grain yield and photosynthetic rate of rice cultivars released in the 20th century in Tohoku region. *Plant Product. Sci.* 7, 36-44.

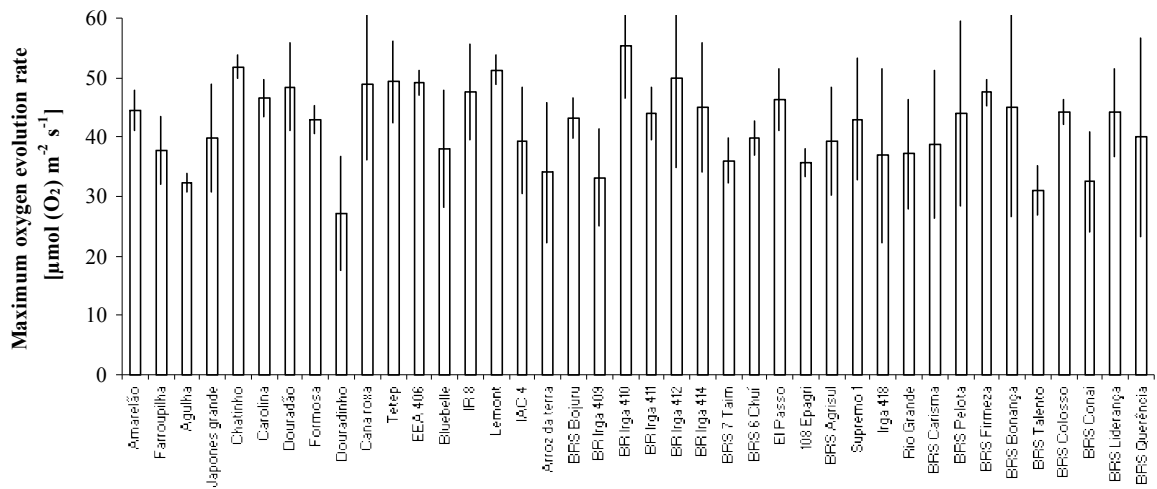


Fig. 1. Maximum oxygen evolution rate ($\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) of rice cultivars released during the period 1900-2005. Vertical bars represent standard deviations ($n = 20$).

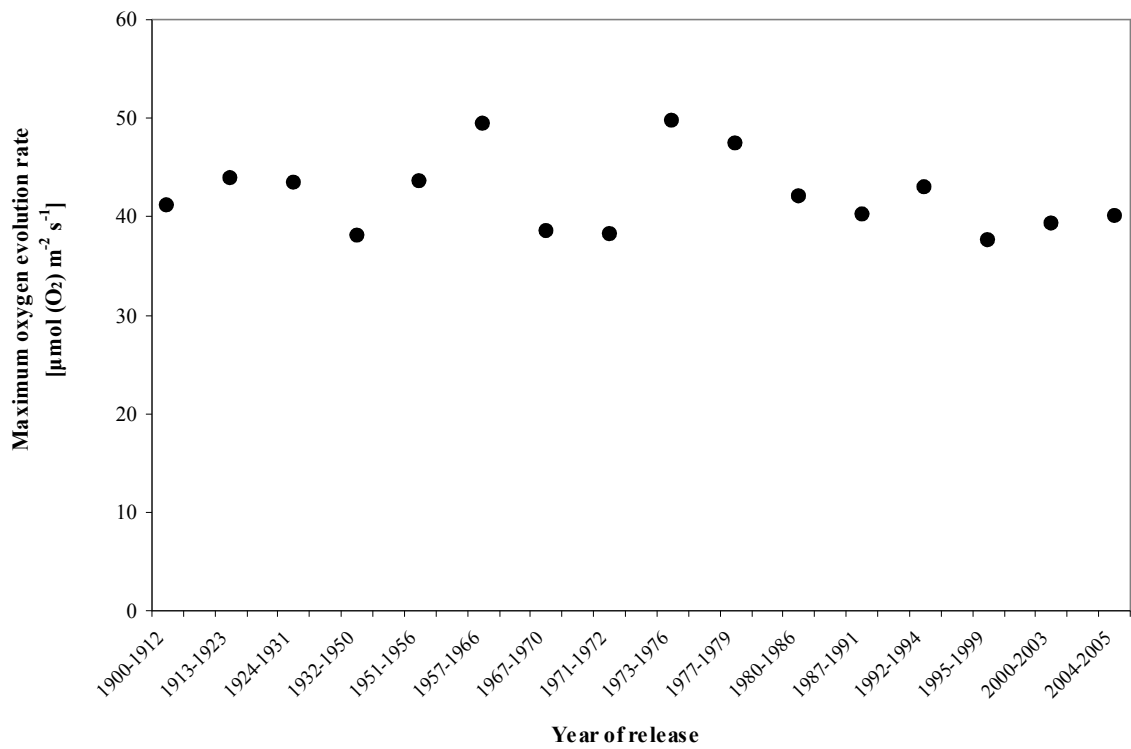


Fig. 2. Maximum oxygen evolution rate ($\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) of rice cultivars released during the period 1900-2005.

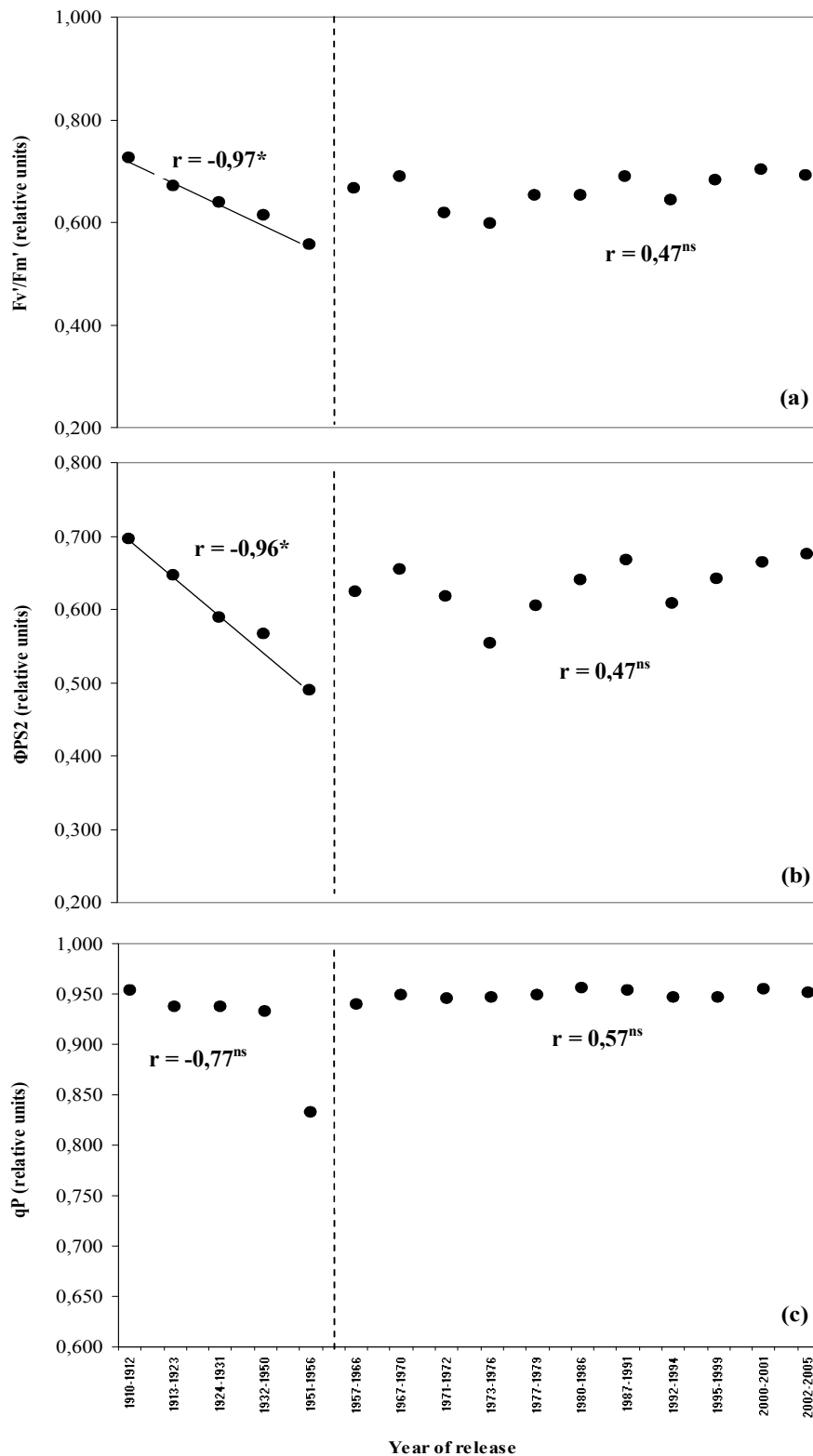


Fig. 3. Effective efficiency of PS2 photochemistry (F_v'/F_m' - a), effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 (Φ_{PS2} - b) and photochemical quenching of Chl fluorescence (q_P - c) in rice cultivars. Cultivars were categorized according to whether they were released prior to or subsequent to

1960. The correlation coefficients are shown for cultivars released before and after 1960. (*) represent 0.05 probability level of significance. (^{ns}) no significant.

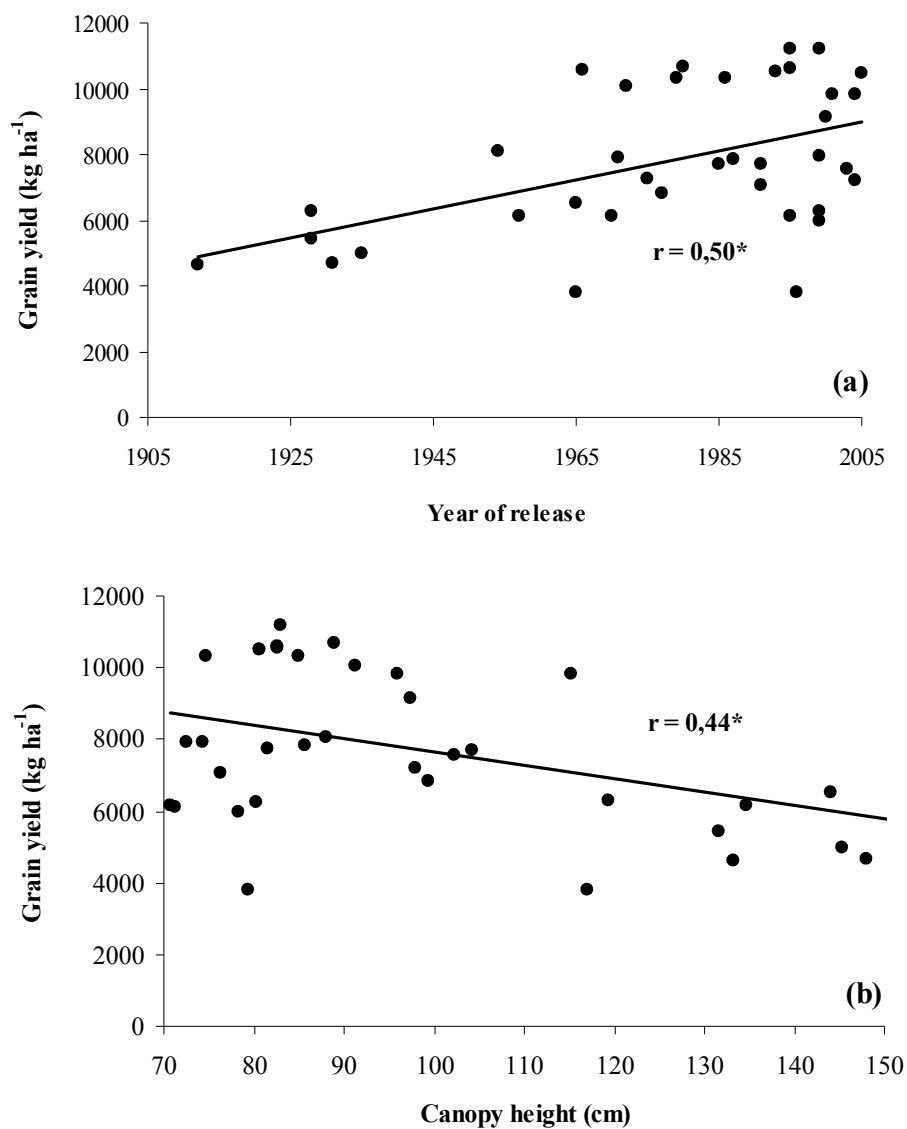


Fig. 4. Relationship between the grain yield and released year (a) and canopy height (b) of rice cultivars released over the period 1900-2005. The correlation coefficients are shown in both pictures. (*) represent 0.05 probability level of significance.

Artigo 2

Oxygen evolution rate of rice cultivars

Marcos Antonio Bacarin, Antelmo Ralph Falqueto, Jefferson Luis Meirelles
Coimbra, Antônio Costa de Oliveira, Ariano Martins de Magalhães Júnior

Publicado em *Photosynthetica*, v.46, n.1, p. 148-150, 2008

BRIEF COMMUNICATION

Oxygen evolution rate of rice cultivars

M.A. BACARIN^{*+}, A.R. FALQUETO^{*}, J.L. MEIRELLES COIMBRA^{**}, A.C. DE OLIVEIRA^{**},
and A.M. DE MAGALHÃES, Jr.^{***}

*Laboratório de Metabolismo Vegetal, Depto. de Botânica, Instituto de Biologia,
Universidade Federal de Pelotas, 96010900 Pelotas/RS, Brazil^{*}*

*Laboratório de Melhoramento Genético de Plantas, Depto. de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
Universidade Federal de Pelotas, 96010900 Pelotas/RS, Brazil^{**}
Embrapa Clima Temperado, 96010900 Pelotas/RS, Brazil^{***}*

Abstract

Under natural conditions we found a significant variation in oxygen evolution rate (OER) in flag leaves of different rice genotypes during the grain filling stage. Cv. Roxinho showed the highest OER [$42 \mu\text{mol}(\text{O}_2) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], followed by BRS Taim, BRS Pelota, BRS Bojuru, IR58025B, BRS 6 Chui, and BR-IRGA 409, with 37.0, 34.0, 33.0, 31.8, 29.0, 28.0, and $27.6 \mu\text{mol}(\text{O}_2) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively. The lack of fertility in the male-sterile rice line IR58025A prolonged the photosynthetic capacity by at least 15 d when compared to the normal fertility found in the IR58025B line. No difference was observed in OER among first (flag) and second leaves in both IR58025A and IR58025B rice lines.

Additional key words: *Oryza sativa*; photosynthesis.

Rice (*Oryza sativa* L.) is the most important crop in the world. It is used as staple food by more than half of the world population (He *et al.* 2006). Hybrid rice yield is 15–20 % higher than that of the best inbred cultivars (Virmani 1996) and it has played an important role in increasing rice production in many countries. The cytoplasmic male sterile (CMS) system, which involves three-line system (CMS, maintainer, and restorer), is the most widely used for producing F₁ hybrid seeds (Phan *et al.* 2004). This system simplifies the production of hybrids since only a pair of pure fertile and sterile lines is required. Furthermore, the nuclear genes responsible for sterility are relatively easy transferred and thus this technology is a viable option to further increase of rice yield (He *et al.* 2006).

Photosynthesis is the most important factor of crop yield (Jiang *et al.* 2002). In rice, panicle photosynthesis considerably contributes to biomass production (Kato *et al.* 2004). In contrast, some researchers reported that panicle removal did not affect the photosynthetic activity of wheat, barley, and rice leaves, but retarded the decrease of the photosynthesis in rice flag leaves during plant senescence (Koide and Ishihara 1992, Nakano *et al.* 1995). In the present study, we hypothesized that the

photosynthetic capacity in rice sterile plants differs from that of normal fertile plants and the lack of grain filling (GF) in sterile plants is similar to panicle removal. Using mutant lines developed from two CMS maintainer lines we compared photosynthetic characteristics of rice sterile plants and their maintainer line (Zhou *et al.* 2006).

Canopy photosynthesis has been greatly improved in order to increase grain yield. The introduction of genes from wild rice species raises the yield of rice cultivars (Masumoto *et al.* 2004). Crop physiologists have demonstrated an association between breeding progress for yield and leaf activity traits, in particular increased carbon assimilation rate and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBPCO) and RuBPCO activase contents (Sasaki and Ishii 1992, Masumoto *et al.* 2004, Zhang and Kokubun 2004). However, they did not report OER differences among cultivars. Therefore we determined OER of rice cultivars during the GF stage. Furthermore, in order to characterize the effects of lacking fertility on photosynthetic capacity, we compared the OER of rice male sterile line (IR58025A) and its near-isogenic normal fertile line (IR58025B) using first (flag) and second leaves and compared also the dates of flowering (FL) and GF.

Received 7 June 2007, accepted 27 August 2007.

⁺Corresponding author; fax: + 55 53 3275 7169, e-mail: marcos.baccarin@gmail.com

Abbreviations: CMS – cytoplasmic male sterile; FL – flowering; GF – grain filling; OER – oxygen evolution rate.

Acknowledgements: This work was supported by funding from CNPq and FAPERGS.

The experiment was conducted in 2004 and 2005 in the experimental field at Embrapa Clima Temperado (31°49'S, 52°27'W) during the rice growing season from October to March at Pelotas, Rio Grande do Sul State, Brazil. The genotypes screened were BRS Bojuru, BRS 7 Taim, BRS Pelota, BR-IRGA 409, BRS Atalanta, BRS 6 Chui, and Roxinho. In these genotypes, the analysis was made on flag leaf during the GF stage (considered when 95 % of spikelets had turned from green to yellow). Simultaneously, a male sterile line IR58025A and a normal fertile line IR58025B were analyzed in order to evaluate the effects of lacking of fertility on photosynthetic capacity. In IR58025B plants, two analyses were made: during FL (determined when 90 % of hills had at least one stem that had started anthesis) and GF stages. In IR58025A plants (without pollination), the analysis was made during the FL stage and after 15 d, when 95 % of spikelets had turned from green to yellow. In these genotypes, OER was measured on the first (flag) and second leaves.

The maximum OER was determined using a gas-phase oxygen electrode (*Hansatech*, King's Lynn, UK). This method is suitable for measuring a number of samples because of its short measurement time. A piece

of about 3 cm² was cut from the centre of the leaf blade. Photosynthesis was measured under air temperature of 30 °C and irradiance of 2 000 μmol(photon) m⁻² s⁻¹. CO₂ was supplied as molar solution of sodium bicarbonate. The photosynthetic rate was calculated when the evolution oxygen curve reached the stability. This experiment was conducted in agreement with randomized block design and data were expressed as the mean with standard deviation and compared by analyses of variance (ANOVA) followed by the Tukey's test ($p \leq 0.05$).

There was significant variation in OER between different rice genotypes during GF stage. The OER of the Roxinho (1975 approximately) cultivar was 42 μmol(O₂) m⁻² s⁻¹, followed by the BRS 7 Taim, BRS Pelota, and BRS Bojuru cultivars with 37, 34, and 33 μmol(O₂) m⁻² s⁻¹, respectively (Fig. 1). The cultivars BRS 6 Chui and BR-IRGA 409 were characterized by the lowest values of OER (Fig. 1). The rice cultivar released in 1980 (BR-IRGA 409) showed the OER values similar to BRS 6 Chui (1991) and BRS Atalanta (1999), but lower than BRS 7 Taim (1991), BRS Pelota (2000), and BRS Bojuru (1997). Data between parentheses indicate the year that cultivars had been released.

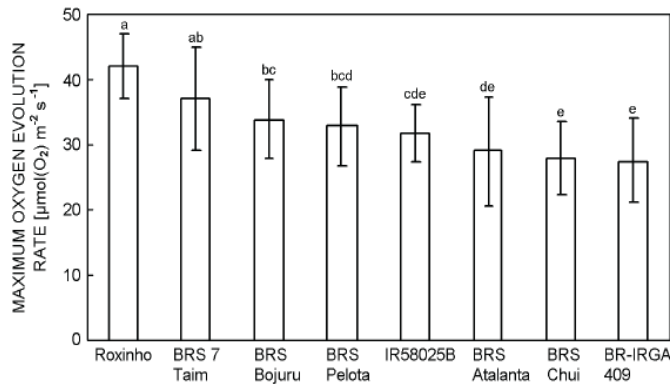


Fig. 1. Maximum oxygen evolution rate in rice cultivars during the grain filling stage. Averages with different letters indicate significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). Vertical bars represent standard deviations ($n = 5$).

Table 1. Maximum oxygen evolution rate [$\mu\text{mol}(\text{O}_2) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] in flag leaf (L1) and 2nd leaf (L2) during the flowering (FL₁) and grain filling (GF) in male sterile (IR58025A) and normal fertility (IR58025B) lines of rice. In IR58025A there was no fertilization and, therefore, FL₁ and FL₂ relate to flowering and GF stages measured in IR58025B, respectively. Capital letters indicate significant differences between L1 and L2; small letters indicate difference between flowering (FL) and GF stages according to Tukey's test ($p \leq 0.05$) ($n = 5$).

Leaf	IR58025A		IR58025B	
	FL ₁	FL ₂	FL ₁	GF
L1	39.61±7.16 Ab	37.70±1.78 Ab	41.70±11.15 Ba	32.88±4.53 Ac
L2	43.69±10.26 Ab	39.04±2.60 Ab	50.84±2.60 Ab	29.71±4.53 Ac

The OER of both flag leaf (L1) and 2nd leaf (L2) did not show significant differences during the FL and GF stages, except for the normal fertile IR58025B line. During FL, the 2nd leaf of IR58025B maintained a higher OER (Table 1). The results also show significant differences in OER between male-sterile and fertile lines in

both developmental stages (Table 1). During the flowering stage (FL₁), OER was significantly higher in the normal fertile line than in the male-sterile line for both flag and second leaves. In contrast, in the latest stage (corresponding to GF), a significant reduction in OER values in IR58025B was also observed (Table 1) which

can reflect directly the reduction of leaf metabolic activity. These results are supported in the literature. Rice plants from sterile lines showed higher photosynthetic rates than their respective fertile lines during the GF stage (Kato *et al.* 2004, Zhou *et al.* 2006).

The results suggest that the absence of fertilization in sterile lines prolonged the photosynthetic capacity in rice plants by at least 15 d. This can be supported by absence of significant differences in the photosynthetic rate in IR58025A sterile line during FL₂ period (15 d after flowering in IR58025A sterile line). On the other hand, the normal GF process in fertile lines induces the diversion of nutrients from leaves or apex to the developing grains. According to Biwas and Choudhuri (1980), the pronounced increase of leaf senescence in fertile lines results in photosynthetic capacity reduction.

Differences in photosynthetic rate between rice lines and cultivars have been reported in the literature. However, the studies generally report differences in carbon assimilation rate and RuBPCO content (Sasaki and Ishii 1992, Murchie *et al.* 2002). Zhang and Kokubun (2004) reported that the net photosynthetic rate was lower in tropical japonica cultivars, grown in the field at the International Rice Research Institute farm in the

Philippines. However, all of them showed lower values of photosynthetic rate than indica cultivars on the same conditions. In addition, among the 32 cultivars released from 1882 to 1976 in Japan, a significant positive correlation between flag leaf net photosynthesis two weeks after heading and the year of cultivar release was found (Sasaki and Ishii 1992). Other studies have shown that rice cultivars released after 1950s had higher photosynthetic rate per leaf area unit (Masumoto *et al.* 2004, Zhang and Kokubun 2004). This finding indicates that the improvements of leaf photosynthesis have occurred with the advance of breeding high-yielding cultivars. Our results are consistent with this fact; breeding rice cultivars to improve yield causes significant differences in OER. Measurements on leaves bellow the flag leaf were also carried out concurrently with flag leaf measurements and showed similar patterns (Murchie *et al.* 2002). In conclusion, the rice genotypes evaluated in this study showed significant differences in OER at the GF stage. Furthermore, there were differences in OER among rice male sterile (IR58025A) and normal near-isogenic (IR58025B) plants at flowering and GF stages. Little variation was observed in OER when flag and second leaves were compared.

References

- Biswas, A.K., Choudhuri, M.A.: Mechanism of monocarpic senescence in rice. – *Plant Physiol.* **65**: 340-345, 1980.
- He, H., Peng, X., Gong, H., Zhu, C., Ye, G.: Fertility behaviour of rice (*Oryza sativa*) lines with dominant male sterile gene and inheritance of sterility and fertility restoration. – *Field Crops Res.* **98**: 30-38, 2006.
- Jiang, H., Wang, X.-H., Deng, O.-Y., Yuan, L.-P., Xu, D.-Q.: Comparison of some photosynthetic characters between two hybrid rice combinations differing in yield potential. – *Photosynthetica* **40**: 133-137, 2002.
- Kato, M., Kobayashi, K., Ogiso, E., Yokoo, M.: Photosynthesis and dry-matter production during ripening stage in a female-sterile line of rice. – *Plant Product. Sci.* **7**: 184-188, 2004.
- Koide, K., Ishihara, K.: Effects of ear removal on dry matter production and its partitioning in wheat and barley. – *Jap. J. Crop Sci.* **61**: 651-658, 1992.
- Masumoto, C., Ishii, T., Kataoka, S., Hatanaka, T., Uchida, N.: Enhancement of rice leaf photosynthesis by crossing between cultivated rice, *Oryza sativa* and wild rice species, *Oryza rufipogon*. – *Plant Product. Sci.* **7**: 252-259, 2004.
- Murchie, E.H., Yang, J., Hubbart, S., Horton, P., Peng, S.: Are there associations between grain-filling rate and photosynthesis in the flag leaves of field-grown rice? – *J. exp. Bot.* **53**: 2217-2224, 2002.
- Nakano, H., Makino, A., Mae, T.: Effects of panicle removal on the photosynthetic characteristics of the flag leaf of rice plants during the ripening stage. – *Plant Cell Physiol.* **36**: 653-659, 1995.
- Phan, C.V., Murayama, S., Ishimine, Y., Kawamitsu, Y., Motomura, K., Tsuzuki, E.: Sterility of thermo-sensitive genic male sterile line, heterosis for grain yield and related characters in F₁ hybrid rice (*Oryza sativa* L.). – *Plant Product. Sci.* **7**: 22-29, 2004.
- Sasaki, H., Ishii, R.: Cultivar differences in leaf photosynthesis of rice bred in Japan. – *Photosynth. Res.* **32**: 139-146, 1992.
- Virmani, S.S.: Hybrid rice. – *Adv. Agron.* **57**: 377-462, 1996.
- Zhang, W.-H., Kokubun, M.: Historical changes in grain yield and photosynthetic rate of rice cultivars released in the 20th century in Tohoku region. – *Plant Product. Sci.* **7**: 36-44, 2004.
- Zhou, X.-S., Shen, S.-Q., Wu, D.-X., Sun, J.-W., Shu, Q.-Y.: Introduction of a xantha mutation for testing and increasing varietal purity in hybrid rice. – *Field Crops Res.* **96**: 71-79, 2006.

Artigo 3

**Influência da adubação nitrogenada nas características
da fluorescência da clorofila em arroz**

Daniela Cassol, Antelmo Ralph Falqueto, Marcos Antonio Bacarin

Publicado na *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p.
573-575, julho 2007

Influência da Adubação Nitrogenada nas Características da Fluorescência da Clorofila em Arroz

Daniela Cassol¹, Antelmo Ralph Falqueto² e Marcos Antonio Bacarin³

Introdução

O crescimento, o desenvolvimento e a produção de grãos em cereais são fortemente influenciados pela disponibilidade de nitrogênio no solo [1]. Estudos mostram que o aumento no suprimento de fertilizantes à base de nitrogênio aumenta de forma significativa a produção de área foliar e, conseqüentemente, a taxa fotossintética das plantas. Em contraste, a deficiência de nitrogênio reduz a área foliar e resulta na redução da absorção da energia luminosa [2]. Portanto, o estudo da sensibilidade do vegetal à aplicação de nitrogênio é de fundamental importância para a agricultura [3].

A fluorescência da clorofila pode ser usada para estimar, rapidamente e de forma não-invasiva, a eficiência do transporte de elétrons através do fotossistema II (FSII). A eficiência de operação deste FSII está correlacionada à assimilação de CO₂ e tem levado à utilização de parâmetros da fluorescência da clorofila para examinar o desempenho fotossintético de plantas em resposta ao suprimento de nitrogênio no solo [4]. A análise do potencial fotossintético de uma planta e suas relações com o ambiente em que estão crescendo e se desenvolvendo permite a ampliação dos conhecimentos sobre sua adaptabilidade às condições de cultivo e à maximização do seu potencial produtivo.

Com base no contexto acima, este estudo teve por objetivo avaliar a influência da aplicação de nitrogênio nas características da fluorescência da clorofila em cinco cultivares de arroz.

Material e métodos

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) cvs. BRS Pelota, BRS Firmeza, BRS 6 Chuí, BRS Atalanta e BRS 7 Taim, fornecidas pela EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas/RS, foram semeadas em vasos plásticos com capacidade para 12 litros contendo solo (Planossolo Solódico), com níveis de nutrientes suficientes para a manutenção do seu crescimento e desenvolvimento. Após a emergência, as plântulas foram desbastadas, permanecendo cinco plantas/vaso. O experimento foi conduzido em casa de vegetação. A primeira coleta de dados foi realizada quando as plantas encontravam-se no estágio vegetativo V3-V4. Imediatamente após as determinações foi aplicada a adubação nitrogenada (0,5 g

de uréia diluída em 0,5 L de água). As análises foram repetidas após dez dias.

A cinética de indução de fluorescência das clorofilas seguiu o modelo descrito por Roháček e Barkat [5]. As folhas foram mantidas no escuro por 15 minutos e em seguida foram determinados os parâmetros da fluorescência em estado adaptado ao escuro, caracterizado pelo estado em que todos os centros de reação do fotossistema II (FSII) e os aceptores de elétrons do FSII estão re-oxidados (abertos) ou, em outras palavras, em estado fotoquimicamente inativo. Nesta condição foram obtidos: F₀ (fluorescência inicial), F_M (fluorescência máxima) e calculada a relação F_v/F_M, definida como a produção quântica potencial máxima do FSII ou rendimento potencial das reações fotoquímicas do FSII.

Determinados os parâmetros da fluorescência da clorofila do estado adaptado ao escuro, a mesma folha foi submetida à luz actínica associada à luz vermelha distante por um período de três minutos, permitindo a obtenção de informações relacionadas ao processo de síntese de ATP, NADPH e, conseqüentemente, à fixação de CO₂. Foram obtidos: F_s (fluorescência quando os processos de transporte de elétrons e as reações bioquímicas de redução do carbono acopladas estão equilibradas), F_{M'} (fluorescência máxima em estado adaptado à luz) e F_{0'} (fluorescência mínima em estado adaptado à luz). A partir dos parâmetros determinados foram calculados os coeficientes de extinção fotoquímico (q^P), não-fotoquímico (q^N) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) de acordo com Roháček & Bartak [5].

Os resultados foram avaliados de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (5 x 2), em cinco repetições, representando cinco cultivares e duas épocas de análise (antes e após adubação nitrogenada). Os dados foram submetidos a uma análise de variância e, quando os valores de *F* foram significativos, comparações de médias foram realizadas usando-se o teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A Tab. 1 mostra os efeitos da adubação nitrogenada sobre parâmetros da fluorescência da clorofila em cinco cultivares de arroz, durante o seu crescimento vegetativo,

1. Laboratório de Metabolismo Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Estudante de Ciências Biológicas, Bolsista IC-CNPq, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP 96010-900. E-mail: daninhacassol@yahoo.com.br

2. Laboratório de Metabolismo Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Estudante de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP 96010-900. E-mail: antelmofalqueto@yahoo.com.br

3. Professor Adjunto, Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil, 96010-900;

Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPERGS.

mantidos em casa de vegetação. Houve interação significativa entre os fatores cultivar e aplicação de nitrogênio para F_V/F_M , $\Phi PSII$, ETR e q^P (Tab. 1).

O suprimento de nitrogênio causou um incremento significativo na eficiência quântica ($\Phi PSII$) e no coeficiente de extinção fotoquímico (q^P) nas cultivares testadas, exceto em BRS Pelota (Tab. 1). Em relação à eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_V/F_M), apenas as cultivares BRS 6 Chuí e BRS Atalanta foram sensíveis à adição de nitrogênio, as quais mostraram aumento em F_V/F_M em resposta à adubação com nitrogênio. Entretanto, a magnitude da diferença nos valores de F_V/F_M entre estas cultivares e até mesmo naquelas onde não houve variação significativa foi pequena, em comparação à magnitude das variações dos valores de $\Phi PSII$ nas respectivas cultivares. Normalmente, durante o crescimento vegetativo de uma planta, a distribuição do nitrogênio é direcionada para a síntese de clorofila e dos componentes da cadeia de transporte de elétrons das membranas dos tilacóides [6]. Esta afirmativa pode justificar os resultados de F_V/F_M obtidos neste estudo. Mesmo em ausência de um suprimento adicional de nitrogênio, as cultivares BRS Pelota, BRS Firmeza e BRS 7 Taim mantiveram uma elevada eficiência de absorção da energia luminosa.

Por outro lado, a taxa de transporte de elétrons no FSII (ETR) foi significativamente reduzida nas plantas supridas com nitrogênio (Tab. 1). ETR indica numericamente o valor absoluto de elétrons transportados por m^2 no intervalo de um segundo e está diretamente correlacionado à radiação fotossintética ativa (RFA) incidente sobre a folha. Durante a segunda coleta de dados (após a aplicação do nitrogênio) RFA permaneceu em torno de $120 \mu mol m^2 s^{-1}$, em comparação ao valor médio de RFA na primeira coleta ($200 \mu mol m^2 s^{-1}$). Esta variação da radiação incidente

pode ter sido responsável pelas variações em ETR nas cultivares.

Com respeito ao coeficiente de extinção não-fotoquímico (q^N), foi observado efeito significativo apenas das cultivares, sem nenhuma interferência do suprimento adicional de nitrogênio (Tab. 2). A cultivar BRS 6 Chuí apresentou maior q^N em detrimento ao menor valor obtido para BRS Firmeza.

Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que a adição de nitrogênio causou um aumento na eficiência de captação da energia luminosa, na eficiência quântica do fotossistema II e na extinção da fluorescência da clorofila devida ao transporte de elétrons e que as cultivares de arroz mostraram diferenças nas respostas fotossintéticas na presença de nitrogênio adicional.

Referências

- [1] CECHIN, I.; FUMIS, T.F. 2004. Effect of nitrogen supply on growth and photosynthesis of sunflower plants grown in the greenhouse. *Plant Science*, 166:1379-1385.
- [2] TOTH, V.R.; MESZKAROS, I.; VERES, S.; NAGY, J. 2002. Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle pool of maize in field, *Journal of Plant Physiology*, 159: 627-634.
- [3] LAWLOR, D.W. 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems, *Journal of Experimental Botany*, 53: 773-787.
- [4] BAKER, N.; ROSENQVIST, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1607-1621.
- [5] ROHACEK, K.; BARTAK, M. 1999. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica*, 37: 339-363.
- [6] MAKINO, A.; SATO, T.; NAKANO, H.; MAE, T. 1997. Leaf photosynthesis, plant growth and nitrogen allocation in rice under different irradiances. *Planta*, 203: 390-398.

Tabela 1. Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_V/F_M), eficiência quântica fotoquímica máxima (Φ PSII), taxa de transporte de elétrons (ETR) e coeficiente de extinção fotoquímica (q^P) obtidos em cultivares de arroz (*Oryza sativa*; estágio V3-V4) antes e após adubação nitrogenada (UFPEL, Pelotas- RS, 2006).

Cultivar	F_V/F_M		Φ PSII		ETR ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		q^P	
	- N	+ N	- N	+ N	- N	+ N	- N	+ N
BRS Pelota	0,830 aA	0,839 aA	0,717 aA	0,753 aA	51,01 aA	37,37 aA	0,969 aA	0,981 aA
BRS Firmeza	0,833 aA	0,852 aA	0,684 aB	0,748 aA	55,15 aA	40,30 aA	0,948 aB	0,972 aA
BRS 6 Chui	0,828 aB	0,855 aA	0,712 aB	0,756 aA	64,05 aA	37,19 aB	0,965 aB	0,975 aA
BRS Atalanta	0,824 aB	0,849 aA	0,695 aB	0,757 aA	70,36 aA	36,50 aB	0,959 aB	0,960 aA
BRS 7 Taim	0,825 aA	0,847 aA	0,705 aB	0,766 aA	60,32 aA	41,55 aA	0,950 aB	0,945 aA
<i>Média</i>	<i>0,828 B</i>	<i>0,848 A</i>	<i>0,703 B</i>	<i>0,756 A</i>	<i>60,17 A</i>	<i>38,58 B</i>	<i>0,958</i>	<i>0,967</i>

Médias seguidas por letras maiúsculas comparam as médias de cada parâmetro em relação ao suprimento de nitrogênio; médias seguidas por letras minúsculas comparam as médias entre cultivares (Tukey, $P \leq 0,05$).

Tabela 2. Coeficiente de extinção não-fotoquímico (q^N) obtido em cultivares de arroz (*Oryza sativa*; estágio V3-V4) antes e após adubação nitrogenada (UFPEL, Pelotas- RS, 2006).

Cultivar	q^N		<i>Média</i>
	-N	+N	
BRS Pelota	0,604	0,596	<i>0,599 ab</i>
BRS Firmeza	0,547	0,573	<i>0,561 b</i>
BRS 6 Chui	0,659	0,64	<i>0,649 a</i>
BRS Atalanta	0,614	0,578	<i>0,594 ab</i>
BRS 7 Taim	0,568	0,597	<i>0,582 ab</i>
<i>Média</i>	<i>0,597</i>	<i>0,596</i>	

Médias seguidas por letras minúsculas comparam as médias entre cultivares (Tukey, $P \leq 0,05$).

Artigo 4

Características da fluorescência da clorofila em cultivares de arroz com ciclo precoce, médio e tardio

Antelmo Ralph Falqueto, Daniela Cassol, Ariano Martins de Magalhães Júnior,
Antônio Costa de Oliveira, Marcos Antonio Bacarin

Publicado na *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p.
579-581, julho 2007

Características da Fluorescência da Clorofila em Cultivares de Arroz Com Ciclo Precoce, Médio e Tardio

Antelmo Ralph Falqueto¹, Daniela Cassol², Ariano Martins de Magalhães Júnior³, Antônio Costa de Oliveira⁴ e Marcos Antonio Bacarin⁵

Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais cereais consumidos pela população mundial, representando, atualmente, cerca de 30% da produção total de grãos [1]. A produção global de arroz tem sido aumentada graças à geração de cultivares com alta produtividade, à expansão das áreas de cultivo, às técnicas de irrigação, fertilização e ao uso de defensivos [2]. Em todo o mundo cerca de 150 milhões de hectares de arroz são cultivados anualmente, produzindo cerca de 590 milhões de toneladas do grão.

A fotossíntese constitui a base da produção de uma cultura. Estima-se que 90% da matéria seca total de um vegetal resultem diretamente do processo fotossintético [3]. A absorção e uso da energia luminosa pelos vegetais podem ser estimados através da análise da fluorescência da clorofila. De acordo com Baker & Rosenqvist [4], mudanças na emissão da fluorescência da clorofila são indicativos de alterações na atividade fotossintética.

Demonstrações de que a fluorescência da clorofila pode ser usada para estimar, rapidamente e de forma não-invasiva, a eficiência do transporte de elétrons através do fotossistema II (FSII) e que a eficiência de operação deste FSII está correlacionada à assimilação de CO₂ tem levado à utilização de parâmetros da fluorescência da clorofila para examinar o desempenho fotossintético de plantas sob condições de laboratório, em condições controladas e em campo [4].

Dentro desse contexto, este estudo avaliou parâmetros da fluorescência da clorofila obtidos de folhas bandeira de três cultivares de arroz que apresentam ciclo médio de vida diferente, visando a obtenção de relações entre o ciclo da cultura e os parâmetros de fluorescência. Para isto, utilizaram-se as cultivares BRS Atalanta, BRS 6 Chuí e BRS 7 Taim para representar as plantas de ciclo precoce, médio e tardio, respectivamente.

Material e métodos

No presente experimento foram utilizadas plantas de

arroz cv. BRS Atalanta, BRS 6 Chuí e BRS 7 Taim, com ciclos precoce, médio e tardio, respectivamente. Sementes dessas cultivares foram fornecidas pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas/RS) e semeadas em vasos plásticos (12 litros) contendo solo obtido do campo experimental da Embrapa (Planossolo Solódico), com níveis de nutrientes suficientes para a manutenção do seu crescimento e desenvolvimento. Após a germinação, as plantas foram desbastadas, permanecendo cinco plantas/vaso. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação. As avaliações foram realizadas 15 e 30 dias após o florescimento das plantas, período correspondente ao início e final do enchimento dos grãos, respectivamente.

Os parâmetros da fluorescência foram medidos usando um fluorômetro modulado (FMS-2, Hansatech, King's Lynn, UK). Para a determinação da fluorescência rápida, amostras foliares foram adaptadas ao escuro durante 20 minutos, quando receberam um fluxo de radiação igual a 0,12 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para a obtenção de F_0 (fluorescência inicial). A fluorescência máxima (F_M) foi determinada durante um pulso de fótons saturante de 4.000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Estes parâmetros básicos da fluorescência da clorofila foram usados para o cálculo da fluorescência variável (F_V) e a eficiência fotoquímica do FSII (F_V/F_M).

Determinados os parâmetros da fluorescência da clorofila do estado adaptado ao escuro, a mesma folha foi submetida à luz actínica associada à luz vermelha distante por um período de 3 minutos, permitindo a obtenção de F_S (fluorescência quando os processos de transporte de elétrons e as reações bioquímicas de redução do carbono acopladas estão equilibradas), F_M' (fluorescência máxima em estado adaptado à luz) e F_0' (fluorescência mínima em estado adaptado à luz). A partir desses parâmetros foram calculadas os coeficientes de extinção fotoquímico (q^P), a eficiência fotoquímica efetiva (F_V'/F_M') e a taxa de transporte de elétrons (ETR).

Os resultados foram avaliados de acordo com um

1. Laboratório de Metabolismo Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Estudante de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP 96010-900. E-mail: antelmofalqueto@yahoo.com.br

2. Laboratório de Metabolismo Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Estudante de Ciências Biológicas, Bolsista IC CNPq, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP 96010-900.

3. Laboratório de Fitomelhoramento, Universidade Federal de Pelotas, Estudante de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – FAEM, Pelotas-RS, CEP: 96010-900.

4. Professor Adjunto, Laboratório de Fitomelhoramento, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – FAEM, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, CEP: 96010-900.

5. Professor Adjunto, Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil, 96010-900;

Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPERGS.

delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (3 x 2), em cinco repetições, representando três cultivares (BRS Atalanta, BRS 6 Chuí e BRS 7 Taim) e dois períodos de análise (início e final do enchimento de grãos). Os dados foram submetidos a uma análise de variância e as médias comparações pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

A fluorescência da clorofila, além de não-destrutiva, é altamente sensível e de fácil manuseio, permitindo a obtenção de informações qualitativas e quantitativas sobre a condição fisiológica do aparato fotossintético. Neste estudo, parâmetros da fluorescência da clorofila foram empregados na caracterização de cultivares de arroz de ciclos precoce, médio e tardio.

A relação F_V/F_M ou eficiência fotoquímica máxima do FSII apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) entre as cultivares no final do período de enchimento de grãos, quando as plantas encontravam-se no ponto ideal para a colheita (Tabela 1). Para a cultivar BRS 7 Taim (de ciclo tardio), o valor de F_V/F_M foi, em média, 0,820, seguido pelas cultivares de ciclo precoce e médio, os quais apresentaram valores de F_V/F_M correspondentes a 0,809 e 0,803, respectivamente. Da mesma forma, F_V'/F_M' , que expressa a eficiência fotoquímica efetiva do FS II, ou seja, a eficiência de transporte de elétrons pelo FSII em estado não-oxidado, variou significativamente entre os estádios para todas as cultivares avaliadas (Tabela 1). A queda em F_V/F_M era previsível, uma vez que as etapas finais de enchimento de grãos em arroz são caracterizadas pela senescência dos órgãos vegetais, causada pela queda nos teores de pigmentos fotossintéticos, reduções na razão FSII:FSI e degradação dos componentes protéicos dos fotossistemas [5]. Entretanto, em detrimento à queda observada na eficiência fotoquímica máxima durante a fase final do enchimento dos grãos, é importante ressaltar que os valores absolutos de F_V/F_M observados para as cultivares ainda encontram-se dentro dos padrões observados para a maioria das espécies vegetais em ausência de qualquer estresse abiótico e/ou biótico [6, 7].

Quando se comparou cada cultivar entre os respectivos períodos de análise, observou-se uma redução significativa na relação F_V/F_M para as três cultivares no período final de enchimento de grãos. Este resultado foi consistente com a redução observada em F_V'/F_M' (Tabela 1). Analogamente aos resultados supracitados, as cultivares comportaram-se de maneira similar em relação aos valores do *quenching* fotoquímico (q^P) na fase inicial de enchimento dos grãos (Tabela 1). Entretanto, ao final do enchimento de grãos, houve diferença significativa em q^P entre as cultivares testadas. Dessa forma, q^P pode ser um bom indicador de diferenças fisiológicas entre diferentes cultivares de arroz durante o período final de

enchimento de grãos. O *quenching* fotoquímico representa a proporção de energia dos fótons capturada pelos centros de reação do fotossistema II abertos e dissipada via efeito fotoquímico [8], refletindo o grau de oxidação e redução da plastoquinona A (Q_A). A comparação de q^P entre os períodos inicial e final de enchimento de grãos revelou uma redução significativa apenas em BRS 7 Taim (Tabela 1).

A taxa de transporte de elétrons (ETR) reduziu-se significativamente durante o período final de enchimento dos grãos em BRS 6 Chuí (Tabela 1). Além disso, ETR foi significativamente diferente entre as cultivares avaliadas no final do enchimento de grãos (Tabela 1), refletindo as mudanças fisiológicas características desta fase senescente do ciclo de vida das plantas. Jiao *et al.* [3] estudaram características da fluorescência da clorofila em folhas bandeira de seis cultivares de arroz durante o desenvolvimento dos grãos e seus resultados foram consistentes com os obtidos no presente estudo: a eficiência fotoquímica máxima (F_V/F_M), F_V'/F_M' , q^P e ETR reduziram-se na mesma intensidade com que a clorofila foi degradada nas respectivas cultivares.

A partir dos resultados deste experimento pode-se propor que a razão F_V/F_M , F_V'/F_M' e q^P constituem parâmetros sensíveis para determinar diferenças fisiológicas relacionadas à duração do ciclo médio de vida entre cultivares durante o estágio final de enchimento de grãos.

Referências

- [1] MAE, T. 1997. Physiological nitrogen efficiency in rice: Nitrogen utilization, photosynthesis, and yield potential. *Plant and soil*, 196: 201-210.
- [2] MASUMOTO, C.; ISHII, T.; KATAOKA, S.; HATANAKA, T. & UCHIDA, N. 2004. Enhancement of Rice Leaf Photosynthesis by crossing between Cultivated Rice, *Oryza sativa* and Wild Rice Species, *Oryza rufipogon*. *Plant Production Science*, 7: 252-259.
- [3] JIAO, D.; JI, B. & LI, X. 2003. Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice. *Photosynthetica*, 41: 33-41.
- [4] BAKER, N., ROSENQVIST, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1607-1621.
- [5] YAMAZAKI, J.-Y.; KAMIMURA, Y.; OKADA, M.; SUGIMURA, Y. 1999. Changes in photosynthetic characteristics and photosystem stoichiometries in the lower leaves in rice seedlings. *Plant Science*, 148: 155-163.
- [6] ROHACEK, K.; BARTAK, M. 1999. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica*, 37: 339-363.
- [7] HUNT, S. 2003. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiologia Plantarum*, 117: 314-325.
- [8] JUNEAU, P.; GREEN, B.R.; HARRISON, P.J. 2005. Simulation of Pulse-Amplitude-Modulated (PAM) fluorescence: Limitations of some PAM-parameters in studying environmental stress effects. *Photosynthetica*, 43: 75-83.

Tabela 1. Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_V/F_M), eficiência fotoquímica efetiva (F_V'/F_M'), coeficiente de extinção fotoquímica (q^P) e taxa de transporte de elétrons (ETR) obtidos nos estádios de início (1) e final (2) do enchimento de grãos em cultivares de arroz diferindo em relação ao ciclo médio de vida (UFPEL, Pelotas- RS, 2006).

Cultivar	Ciclo (dias)	Estádio	F_V/F_M	F_V'/F_M'	q^P	ETR
BRS Atalanta	<i>Precoce</i> (100)	1	0,838 ± 0,01 aAB	0,723 ± 0,055 a	0,481 ± 0,131	58,97 ± 15,76 aA
		2	0,809 ± 0,013 b	0,458 ± 0,113 b	0,520 ± 0,284 A	60,03 ± 8,860 aA
BRS 6 Chui	<i>Médio</i> (110)	1	0,829 ± 0,017 aB	0,687 ± 0,066 a	0,311 ± 0,084	84,90 ± 16,87 aA
		2	0,803 ± 0,022 b	0,468 ± 0,103 b	0,344 ± 0,214 AB	54,22 ± 11,16 bB
BRS 7 Taim	<i>Tardio</i> (130)	1	0,848 ± 0,013 aA	0,694 ± 0,057 a	0,402 ± 0,080 a	96,41 ± 33,81 aB
		2	0,820 ± 0,011 b	0,475 ± 0,059 b	0,154 ± 0,034 bB	89,03 ± 4,963 aB

1. Início do enchimento dos grãos; 2. Final do enchimento dos grãos.

Nas colunas, médias seguidas por letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as cultivares (BRS Atalanta vs BRS 6 Chui vs BRS 7 Taim) em cada estágio (Início do enchimento dos grãos e Final do enchimento dos grãos); médias seguidas por letras minúsculas indicam diferença significativa para cada cultivar entre os estádios (Início do enchimento dos grãos ou Final do enchimento dos grãos). Todas as comparações foram feitas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$) com 5 repetições. Os números que seguem cada média representam os desvios padrões.

Artigo 5

Chlorophyll fluorescence in two rice cultivars with differences in grain yield potential

Antelmo Ralph Falqueto, Daniela Cassol, Ariano Martins de Magalhães Júnior,
Antônio Costa de Oliveira, Marcos Antonio Bacarin

[Submetido à publicação no periódico *Photosynthetica* (ISSN 0300-3604), Praha,
República Tcheca, 2007]

Chlorophyll fluorescence in two rice cultivars with differences in grain yield potential

ANTELMO RALPH FALQUETO^a, DANIELA CASSOL^a, ARIANO MARTINS DE MAGALHÃES JÚNIOR^b, ANTÔNIO COSTA DE OLIVEIRA^c, MARCOS ANTONIO BACARIN^{a2}

^a Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas-RS, Brazil;

^b Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado. Pelotas-RS, Brazil.

^c Departamento de Fitotecnia, Escola de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS. 96010900.

Abstract

Changes in chlorophyll content and Chl fluorescence parameters on flag leaves of two rice cultivars, BRS Pelota and BRS Firmeza (a *stay green* mutant rice), differing in yield potential were examined along of plant developmental stages. As compared with BRS Firmeza (low yield), BRS Pelota (high yield) showed a significant decrease in Chl content and F_v/F_m after 85 DAS. In BRS Firmeza, changes in F_v/F_m were less evident while Chl content decreased considerably only after 100 DAS, indicating that the senescence was prolonged by at least 15 days in that rice cultivar. Decreases in F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and q^P occurred mainly after 100 DAS in both cultivars. However, F_v'/F_m' and Φ_{PS2} values were lower in BRS Pelota than those from BRS Firmeza, suggesting that the PS2 apparatus of BRS Pelota was less efficient in capturing the excitation energy during the later developmental stage. A positive linear relationship also was observed between F_s/F_o and both F_v/F_m and F_v'/F_m' ratios in both rice cultivar. Moreover, a negative highly

² Corresponding author; phone: +55 53 32757336, e-mail: bacarin@ufpel.edu.br

Abbreviations: Chl – chlorophyll; DAS – days after sown; PS2 – photosystem 2; F_o – minimum fluorescence yield in dark-adapted state; F_o' – minimum Chl fluorescence yield in light-adapted state; F_m – maximum Chl fluorescence yield in dark-adapted state; F_m' – maximum Chl fluorescence yield in light-adapted state; F_v – variable chlorophyll fluorescence; F_v' – maximum variable Chl fluorescence yield in LAS; F_s – *steady-state* Chl fluorescence yield; F_v/F_m – maximal efficiency PS2 photochemistry measured in dark-adapted state; F_s/F_o – F_s normalized to F_o ; F_v'/F_m' – effective efficiency of PS2 photochemistry measured in light-adapted state; q^P – photochemical quenching of Chl fluorescence; q^N – non-photochemical quenching of Chl fluorescence; Φ_{PS2} – effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 in light-adapted state.

Acknowledgements: the author thank to CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil and FAPERGS - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, Brazil – for financial support.

significant relationship was found between F_s/F_o and q^N in both cultivars, suggesting that F_s/F_o level is most directly responsive to q^N . In both cultivars, the relationship between F_s/F_o and q^P was less clear. From these results, we conclude that BRS Firmeza possesses some better parameters in Chl fluorescence than BRS Pelota and the differences between them could be better registered at later grain filling stage. Finally, inferences about the energy dissipation and down-regulation processes in the PS2 antennae allow to hypothesize that BRS Firmeza is able to efficiently regulate the photosynthetic apparatus in steady-state conditions.

Additional key words: non-photochemical quenching, *Oryza*, photochemical efficiency, photosystem II, photochemical quenching.

Introduction

Rice is among the oldest of cultivated crops, ranking as one of the most important foods in the world, since it is consumed by more than half of the world population (He *et al.* 2006). Although increments in the world rice production have been obtained in the last years, with the projected population increase, the rice grain yield has yet to increase by 60 % in the next 30 years, in order to supply the demand for this cereal (Ying *et al.* 1998). Therefore, the main goal of rice breeding programs is grain yield optimization through the generation of high-yielding cultivars (Ying *et al.* 1998, Koutroubas and Ntanos 2003, Masumoto *et al.* 2004). Yield potential of modern rice cultivars in irrigated areas has stalled close to 10 t ha^{-1} , although grain yields over 13 t ha^{-1} have been reported in farmer's fields in the subtropical environment of China and the temperate environment of Australia (Ying *et al.* 1998).

High crop yield is determined by the ability of a plant to produce high levels of photoassimilates (Daie 1985). Thus, the increase of photosynthetic performance of cultivars has been intensively considered since photosynthesis is the initial process of biomass production and yield formation (Lawlor 1995, Jiang *et al.* 2000). Biomass production can be increased by modifying growth duration, crop growth rate or both, since they are a function of canopy net photosynthesis and light absorption efficiency (Lawlor 1995).

Light absorbed by the antenna complexes can be used to drive photosynthesis, but the excitation energy can be dissipated by several mechanisms. Thus, the excited singlet state of Chl is subjected to a number of competing de-excitation reactions, including photochemical trapping, energy transfer, radiation-less de-excitation and fluorescence emission (Krause and Weis 1991).

Some efforts have been devoted to identifying differences in Chl fluorescence yield among rice cultivars with difference in yield potential. Jiang and co-workers (2002) reported that there is some association between light absorption efficiency, measured through the chlorophyll fluorescence yield, and grain yield in rice (Jiang *et al.* 2002). They reported that Peiai 64S/E32 (hybrid rice with a higher yield potential) showed a slightly higher PS2 photochemical efficiency (F_v/F_m and $\Delta F/F_m'$) than Shanyon 63, used as a reference. However, these data were obtained at the panicle differentiation stage, and failed to improve insights about the photosynthetic performance along plant development, from vegetative state until the plant senescence. Such information would be useful to understand the current constraints of rice yield potential and to determine the plant photosynthetic characteristics that contribute to high yields.

In recent years, the chlorophyll fluorescence has been used as an efficient tool in crop research, such as the characterization of wheat cultivars (Jiang *et al.* 2000, Jiang and Xu 2000), soybean (Braga *et al.* 2006, Huang *et al.* 2006, Bernal *et al.* 2007), common bean (Zanandrea *et al.* 2006), barley (Li *et al.* 2006, Jiang *et al.* 2006) and rice (Jiang *et al.* 2002, Lidon *et al.* 2004, Falqueto *et al.* 2006). Furthermore, it has been shown that the Chl fluorescence technique allows the evaluation of parameters that correlate with net CO₂ assimilation, which in turn give estimates of the linear electron transport rate through PS2 (ETR) (Krall and Edwards 1992). Recently, it has been reported that the F_s/F_o ratio, obtained through simple fluorescence parameters (F_s and F_o) are associated with important gas-exchange parameters (net CO₂ assimilation and stomatal conductance) in grapevine plants (*Vitis vinifera* L.) under water stress conditions (Flexas *et al.* 2002). These results suggest that F_s/F_o ratios could be tested for other comparisons, i.e. those related to differences in yield potential between cultivars. Studies testing F_s/F_o ratios in rice cultivars differing in yield potential have not yet been reported. Thus, the objective of this study was to compare relevant chlorophyll fluorescence parameters between two rice cultivars differing in yield potential (high and low) along plant developmental stages.

Materials and methods

Plants: This experiment was carried in greenhouse during rice (*Oryza sativa* L.) growing season (October to March) during the summer 2005/2006. The greenhouses were located in Capão do Leão County, RS, Brazil (31°48'S, 52°24'W). The rice varieties used were BRS Firmeza and BRS Pelota. These cultivars were chosen because of their difference in grain yield potential (7.5 and 10 t ha⁻¹ for BRS Firmeza and BRS Pelota, respectively). BRS Firmeza is a *stay green* mutant rice included in the modern/american rice type and it has short stature (mean plant height of 77 cm), early

maturation (time of maturity 115-120 days), low-tillering ability, small-panicle type, and vigorous and strong culms and large and green leaf blades. BRS Pelota is originated through the selection of off-type plants found in a heterogeneous population of BR-Irga 410 cultivar. This cultivar is a relatively tall (plant height 80-100 cm), medium maturing (125–130 days), high tillering ability and large panicle cultivar (Magalhães Júnior *et al.* 2003). A randomized complete design with ten replicates was used for each rice cultivar. Each replicate consisted of one plastic pot (12 L) filled with soil fertilized according to official guidelines (Sosbai, 2007). Twenty-five seeds were sown in each pot. In order to obtain uniform plants, the seedlings of each pot were thinned from 25 to 5 per pot after the appearance of the second leaf. Thereafter, a water depth of 3 to 5 cm was maintained until after maturity.

In this paper, rice growth is divided into the four stages: vegetative - 70 days after sowing (DAS) (recorded from sowing date to panicle initiation), flowering – 85 DAS (determined when 90 % of hills had at least one tiller on anthesis), early grain development – 100 DAS (determined when 90 % of grains had reached milking stage) and later grain development – 115 DAS (considered when 95 % of spikelets had turned from green to yellow). All the measurements were performed on the first leaf (when the plants were at vegetative developmental stage) and after on the flag leaves (when the plants were at reproductive stage). Chl and fluorescence parameters were measured in dark adapted state (F_v/F_m and F_s/F_o), during the four stages. The effective photochemical efficiency parameters and the photochemical and non-photochemical quenching (F_v'/F_m' , Φ_{PS2} , q^P and q^N) were analyzed at 70, 100 and 115 DAS (flowering, early and later grain filling stages).

Chl content was extracted with 80 % acetone and determined spectrophotometrically according to Arnon (1949).

Chl fluorescence parameters were measured using a fluorescence monitoring system *FMS2* (King's Lynn, Norfolk, England). The leaves were left in dark by 20 min before the measurements, in order to return the photosystems to the oxidized state. Then minimal fluorescence (F_o) was recorded when a weak modulated measuring radiation with an overall photon flux density lower than $0.1 \mu\text{mol}(\text{photon}) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ was applied to pre-darkened samples. When samples were irradiated by a pulse saturating radiation, the maximum fluorescence (F_m) was obtained as well. A difference between F_m and F_o was denominated maximum variable fluorescence (F_v). When F_m decreased, the steady state fluorescence (F_s) was reached in continuous actinic light. Application of a saturating pulse at this state enabled to determine maximum F_m' and F_o' . Then, F_v' was calculated by equation $F_v' = (F_m' - F_o')$. Thereafter, we calculated the maximal efficiency of PS2 photochemistry (F_v/F_m), F_s/F_o ratio and the effective efficiency of PS2 photochemistry (F_v'/F_m'). Photochemical quenching (q^P), the non-photochemical quenching (q^N) and the effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 (Φ_{PS2}) were calculated as $q^P = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$, $q^N = (F_m - F_m')/(F_m - F_o)$ and $\Phi_{\text{PS2}} = (F_m' - F_s)/F_m'$, respectively (Roháček 2002).

Statistical Analyses: The data were subjected to an analysis of variance, considering two factors: cultivars (BRS Firmeza and BRS Pelota) and days after sown (70, 85, 100 and 115). The means were tested for significance by Tukey's test ($p < 0.05$ and $p < 0.01$).

Results

Chl content: Leaf Chl content of BRS Pelota was significantly greater than BRS Firmeza at 85 DAS (flowering), decreasing gradually until 115 DAS (later grain filling stage). In BRS Firmeza, Chl content did not changed considerably until 100 DAS. However, from 100th to the 115th DAS there was a markedly reduction of Chl content in this cultivar (Fig. 1A).

Chl fluorescence parameters: Changes in the maximal efficiency of PS2 photochemistry (F_v/F_m) and F_s/F_o ratio during the development of the rice cultivars differing in yield potential are shown in Figure 1B,C. Changes in F_v/F_m were less evident in BRS Firmeza along plant development. In BRS Pelota, a greater reduction in F_v/F_m was observed at 115 DAS (later grain filling stage). In both rice cultivars, the F_s/F_o values increased significantly along development (Fig. 1C). F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and q^P decreased significantly after 100 DAS (early grain filling stage) in both cultivars (Fig. 2). F_v'/F_m' and Φ_{PS2} were lower in BRS Pelota at 115 DAS (Fig. 2A,B). On the other hand, q^P was higher in BRS Pelota at 115 DAS (Fig. 2C). Differences in q^N between cultivars were evident only at 85 DAS (data not show).

Relationship between Chl fluorescence and F_s/F_o : A positive correlation was obtained between F_v/F_m , F_v'/F_m' and F_s/F_o in BRS Firmeza and BRS Pelota rice cultivars (Fig. 3A,B,C,D). In contrast, a negative correlation was observed between q^N and F_s/F_o for both cultivars (Fig. 3E,F). The correlation between q^P and F_s/F_o was less clear (Fig. 3 G,H).

Discussion

The results of the present study showed a substantial decrease in the Chl content and photosynthetic capacity in flag leaves along development of rice plants differing in yield potential (Fig. 1 and 2). When plants entered the reproductive stage (85 DAS) the Chl level decreased markedly in BRS Pelota rice cultivar, but it was maintained remarkably constant in BRS Firmeza (Fig 1A), which was in accordance to the green appearance of the leaves. Thomas and Stoddart (1980) and Park *et al.* (2007) admitted that the changes in Chl level are usually considered a good index expressing leaf senescence. Thus, ours results indicate that leaf senescence in BRS Firmeza, a rice cultivar with low yield potential, was prolonged by at least 15 days under natural

conditions. BRS Firmeza rice cultivar is a stay *green* mutant rice, characterized by the persistence of the green colour of leaves for longer than BRS Pelota rice cultivar. Thus, BRS Firmeza can arise from delays in the initiation of senescence and its rate of progress (Rampino *et al.* 2006, Park *et al.* 2007). Likewise, the maximum PS2 photochemical efficiency (F_v/F_m) showed little change in BRS Firmeza, suggesting that the maximum light absorption capacity of PS2 reaction center was unchanged in this rice cultivar with lower yield potential. Thus, BRS Firmeza appears to be more capable than BRS Pelota to maintain a continued efficient energy transfer and capture in the remaining PS2 apparatus. In BRS Pelota, the maximum PS2 photochemical efficiency values after 85 DAS were strongly correlated with Chl content (Fig.1). In the present study, we observed that the decline of F_v/F_m values were consistent to declined Chl content in BRS Pelota, indicating that main cause of its lower maximum PS2 photochemical efficiency is its lower Chl level.

Another important parameter used in chlorophyll fluorescence studies is the F_s/F_o ratio, which can be used as a good indicator of photosynthetic capacity in plants (Flexas *et al.* 2002). Correlation analyses showed that F_s/F_o ratio should be positively correlated with CO_2 assimilation, with electron transport rates calculated from fluorescence and with stomatal conductance in C_3 species (Flexas *et al.* 2002). In this study, we used the values of F_s/F_o ratio to indicate the CO_2 fixation capacity of BRS Firmeza and BRS Pelota. The increase of F_s/F_o for the two rice cultivars were directly proportional to the increase of F_v/F_m values at flowering and early grain filling stages (85 and 100 DAS, respectively) (Fig. 1B,C). Likewise, the drop in F_s/F_o at 100 DAS was consistent with a decrease in F_v/F_m . However, this decline in F_s/F_o values was higher in BRS Pelota than BRS Firmeza, indicating that a lower proportion of photons

which were captured could be used for CO₂ fixation in that cultivar presenting higher yield potential (Adams *et al.* 1990).

We observed also a gradual declining in F_v'/F_m' , Φ_{PS2} and q^P mainly after early grain development in both cultivars (100 DAS) (Fig. 2). Moreover, F_v'/F_m' and Φ_{PS2} values of BRS Pelota were substantially lower than those from BRS Firmeza at later grain development stage (115 DAS) and the difference between them was significant (Fig. 2A,B). This result suggests that the PS2 apparatus in BRS Pelota rice cultivar (high grain yield potential) is less efficient in capturing the excitation energy during the later developmental stages. Additionally, a considerable decrease in F_v'/F_m' , but only a small decrease in F_v/F_m in flag leaves in BRS Firmeza rice cultivar suggests that the decreased F_v'/F_m' could be associated with an increase in energy dissipation in the PS2 antennae (Lu *et al.* 2002). However, it appears that this energy dissipation did not occur as heat loss, since increases in q^N values during the later development of plants were not observed (data not show). Our finding that the maximal efficiency of PS2 photochemistry (F_v/F_m) in the dark-adapted state showed little changes during the plant development in BRS Firmeza also indicates that the significant decrease in the effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 (Φ_{PS2}) under steady-steady photosynthesis is the result of down-regulation of PS2 in the light-adapted state. This down-regulation was associated with a decrease in the photon fraction absorbed by antenna pigment used by PS2 for photochemical electron transport (estimated from decreased q^P) and a decrease in the efficiency of excitation energy capture by open PS2 centers (F_v'/F_m').

Photochemical quenching (q^P) values were higher in BRS Pelota cultivar only during the later grain filling stage (115 DAS) (Fig. 2C). According to Jiao *et al.* (2003), q^P indicates the photon fraction absorbed by antenna pigment used by PS2 for caused

photochemical electron transport. Thus, BRS Pelota rice cultivar should use more efficiently the energy absorbed by PS2 and convert this energy in photochemical effect at later grain development stage. On the other hand, the higher values of q^N in BRS Pelota at vegetative stage indicates that this rice cultivar, with high yield potential, shows some excessive photon energy absorbed but not used for charge separation in PS2. Thus, this excessive photon energy was dissipated to protect the photosynthetic apparatus (Jiao *et al.* 2003). The drop of q^N values between the early and later grain filling stages could indicate that there was greater efficiency of photon energy absorbed in both cultivars in the first stage. This could mean that greater electron flows are produced and transmitted to photosynthetic carbon metabolism as energy through a linear electron transmission chain (Jiao *et al.* 2003).

A positive linear relationship was observed between F_s/F_o and both F_v'/F_m' and F_v/F_m for both cultivars (Fig. 3A,B,C,D). However, this relationship was higher in BRS Pelota ($r = 0.61$ and 0.84 to F_v/F_m and F_v'/F_m' , respectively). On the other hand, a negative highly significant correlation was found between F_s/F_o and q^N in both cultivars (Fig. 3E,F). The correlation coefficients between F_s/F_o and q^N were -0.96 and -0.84 for BRS Firmeza and BRS Pelota, respectively. Thus, a non-photochemical process, which is able to dissipate the excitation energy in excess, appears to be most efficient in BRS Firmeza than BRS Pelota, considering the correlation coefficient values for both cultivars. Although there was a certain decreasing trend of F_s/F_o with increasing q^P in BRS Firmeza, the correlation between these two parameters was less clear (Fig. 3G,H). Thus, it appears that BRS Firmeza, a rice cultivar presenting low yield potential, shows less CO_2 assimilation, in despite of its higher maximum photochemical efficiency of PS2. This conclusion is supported in reports by Flexas and co-workers (2002), which described that F_s/F_o can be an excellent indicator of CO_2 assimilation. Finally, the

strong correlation coefficient observed between F_s/F_o and q^N suggests that F_s/F_o level is most directly responsive to q^N .

Altogether, the low yield potential rice cultivar BRS Firmeza possesses some better parameters in Chl fluorescence than high yield potential rice cultivar BRS Pelota. Moreover, the results showed that the greater differences in Chl fluorescence parameters can be better registered at end of plant life cycle. Besides, the higher F_v/F_M and F_s/F_o values were good indicatives of efficient energy transfer and capturing and the proportion of photons used for CO₂ fixation in BRS Firmeza. The results of this study also allowed some inferences regarding the energy dissipation and down-regulation processes in the PS2 antennae showing that BRS Firmeza was able to efficiently regulate the photosynthetic apparatus in steady-state conditions.

References

- Adams, W.W., Winter, K., Schreiber, U., Schramel, P.: Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigments and element composition of leaves of *Platanus accidentalis* L. during autumnal leaf senescence. - *Plant Physiol.* **93**: 1184-1191, 1990.
- Arnon, D.I.: Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. - *Plant Physiol.* **24**: 1-15, 1949.
- Bernal, M., Cases, R., Picorel, R., Yruela, I.: Foliar and root Cu supply affect differently Fe- and Zn-uptake and photosynthetic activity in soybean plants. - *Environ. Exp. Bot.* **60**: 145-150, 2007.
- Braga, M.R., Aidar, M.P.M., Marabesi, M.A., Godoy, J.R.L.D.: Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. - *Environ. Exp. Bot.* **58**: 85-92, 2006.

- Daie, J.: Carbohydrate partitioning and metabolism in crops. - *Hortic. Review* **7**: 69-108, 1985.
- Falqueto, A.R.; Cassol, D.; Magalhães Junior, A.M.; Oliveira, A.C.; Bacarin, M.A. Características fotossintéticas em cultivares de arroz com produção contrastante. - *R. Bras. Biociências* **5**: 582-584, 2007.
- Flexas, J., Escalona, J.M., Evain, S., Gulías, J., Moya, I., Osmond, C.B., Medrano, H.: Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C₃ plants. - *Physiol. Plant.* **114**: 231-240, 2002.
- He, H., Peng, X., Gong, H., Zhu, C., Ye, G.: Fertility behaviour of rice (*Oryza sativa*) lines with dominant male sterile gene and inheritance of sterility and fertility restoration. - *Field Crops Res.* **98**: 30-38, 2006.
- Huang, L.F., Zheng, J.H., Zhang, Y.Y., Hu, W.H., Mao, W.H., Zhou, Y.H., Yu, J.Q.: Diurnal variations in gas exchange, chlorophyll fluorescence quenching and light allocation in soybean leaves: The cause for midday depression in CO₂ assimilation. - *Sci. Hort.* **110**: 214-218, 2006.
- Jiang, H., Xu, D.-Q.: Physiological basis of the difference in net photosynthetic rate of leaves between two maize strains. - *Photosynthetica* **38**: 199-204, 2000.
- Jiang, G.M., Gao, N.B., Bai, K.Z., Zhang, Q.D., Sun, J.Z., Guo, R.J., Ge, Q.Y., Kuang, T.Y.: Chain correlation between variables of gas exchange and yield potential in different winter wheat cultivars. - *Photosynthetica* **38**: 227-232, 2000.
- Jiang, H., Wang, X.-H., Deng, Q.-Y., Yuan, L.-P., Xu, D.-Q.: Comparison of some photosynthetic characters between two hybrid rice combinations differing in yield potential. - *Photosynthetica* **40**: 133-137, 2002.

- Jiang, Q., Roche, D., Monaco T. A., Durham, S.: Gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and carbon isotope discrimination of 14 barley genetic lines in response to salinity. - *Field Crops Res.* **96**: 269-278, 2006.
- Jiao, D., Ji, B., Li, X.: Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice. - *Photosynthetica* **41**: 33-41, 2003.
- Koutroubas, S.D., Ntanos, D.A.: Genotypic differences for grain yield and nitrogen utilization in Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. - *Field Crops Res.* **83**: 251-260, 2003.
- Krall, J.P., Edwards, G.E.: Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. - *Physiol. Plant.* **86**: 180-187, 1992.
- Krause, G.H., Weis, E.: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. - [Annu Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.](#) **42**: 313-349, 1991.
- Lawlor, D.W.: Photosynthesis, productivity and environment. – *J. Exp. Bot.* **46**: 1449-1461, 1995.
- Li, R.H., Guo, P.G., Michael, B., Stefania G., Salvatore, C.: Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. - *Agricult. Sci. China* **5**: 751-757, 2006.
- Lidon, F.C., Barreiro, M.G., Ramalho, J.C.: Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. - *J. Plant Physiol.* **161**: 1235-1244, 2004.
- Lu, Q., Lu, C., Zhang, J., Kuang, T.: Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. - *J. Plant Physiol.* **159**: 1173-1178, 2002.
- Magalhães JR.A.M. de, Fagundes, P.R., Franco, D.F.: Melhoramento genético, biotecnologia e cultivares de arroz irrigado. In: Magalhães JR.A.M., Gomes, A.S.:

Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, p.13-33, 2003. (Embrapa Clima Temperado: Documentos, 113).

Masumoto, C., Ishii, T., Kataoka, S., Hatanaka, T., Uchida, N.: Enhancement of Rice Leaf Photosynthesis by crossing between Cultivated Rice, *Oryza sativa* and Wild Rice Species, *Oryza rufipogon*. - Plant Product. Sci. **7**:252-259, 2004.

Park, S.-Y., Yu, J.-W., Park, J.-S., Li, J., Yoo, S.-C., Lee, N.-Y, Lee, S.-K., Jeong, S.-W., Seo, H.S., Koh, H.-J., Jeon, J.-S., Park, Y.-I., Paek, N.-C.: The senescence-induced stay green protein regulates chlorophyll degradation. - The Plant Cell **19**: 1649-1664, 2007.

Rampino, P., Spano, G., Pataleo, S., Mita, G., Napier, J.A., Di Fonzo, N., Shewry, P.R., Perrotta, C.: Molecular analysis of a durum wheat “stay green” mutant: Expression pattern of photosynthesis-related genes. - J. Cereal Sci. **43**: 160-168, 2006.

Roháček, K.: Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. - Photosynthetica **40**: 13-29, 2002.

Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI). Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Pelotas, RS: SOSBAI, 2007. 164p.

Thomas, H, Stoddart, J. L.: Leaf Senescence. - Annual Rev. Plant Physiol. **31**: 83-111, 1980.

Ying, J., Peng, S., He Q., Yang, H., Yang, C., Visperas, R.M., Cassman, K.G.: Comparison of high-yield rice in tropical and subtropical environments I. Determinants of grain and dry matter yields. - Field Crops Res. **57**: 71–84, 1998.

Zanandrea, I., Nassi, F.L., Turchetto, A.C., Braga, E.J.B., Peters, J.A., Bacarin, M.A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. - R. Bras. Agrociência, **12**: 157-161, 2006.

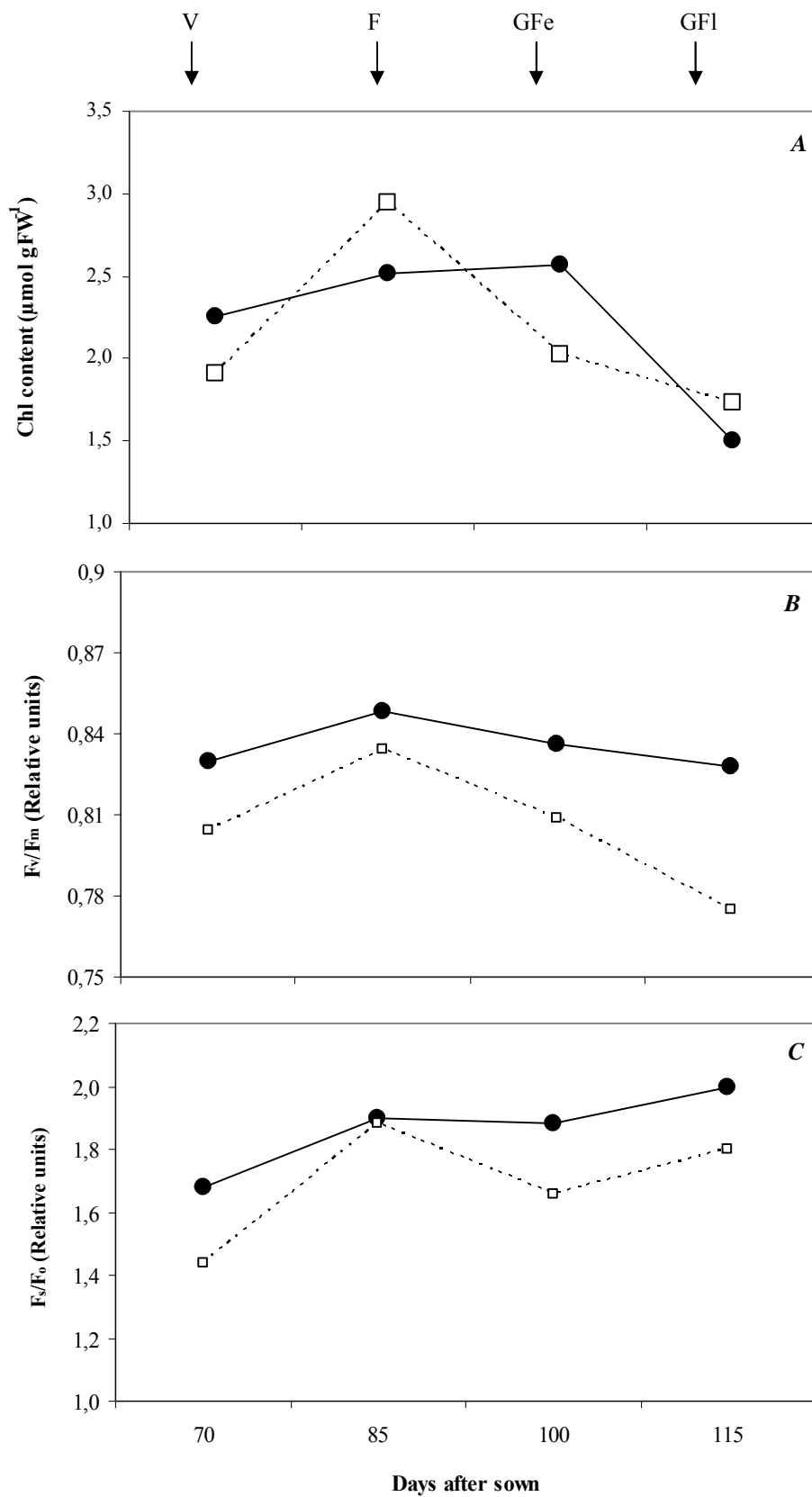


Fig. 1. Changes in chlorophyll content (A), in maximum efficiency of PS2 photochemistry (F_v/F_m – B) and F_0/F_s ratio (C) in BRS Firmeza (●) and BRS Pelota (□) rice cultivars differing in yield potential during the plant development. V – vegetative stage; F – flowering stage; GFe – early grain filling stage; GF1 – later grain filling stage.

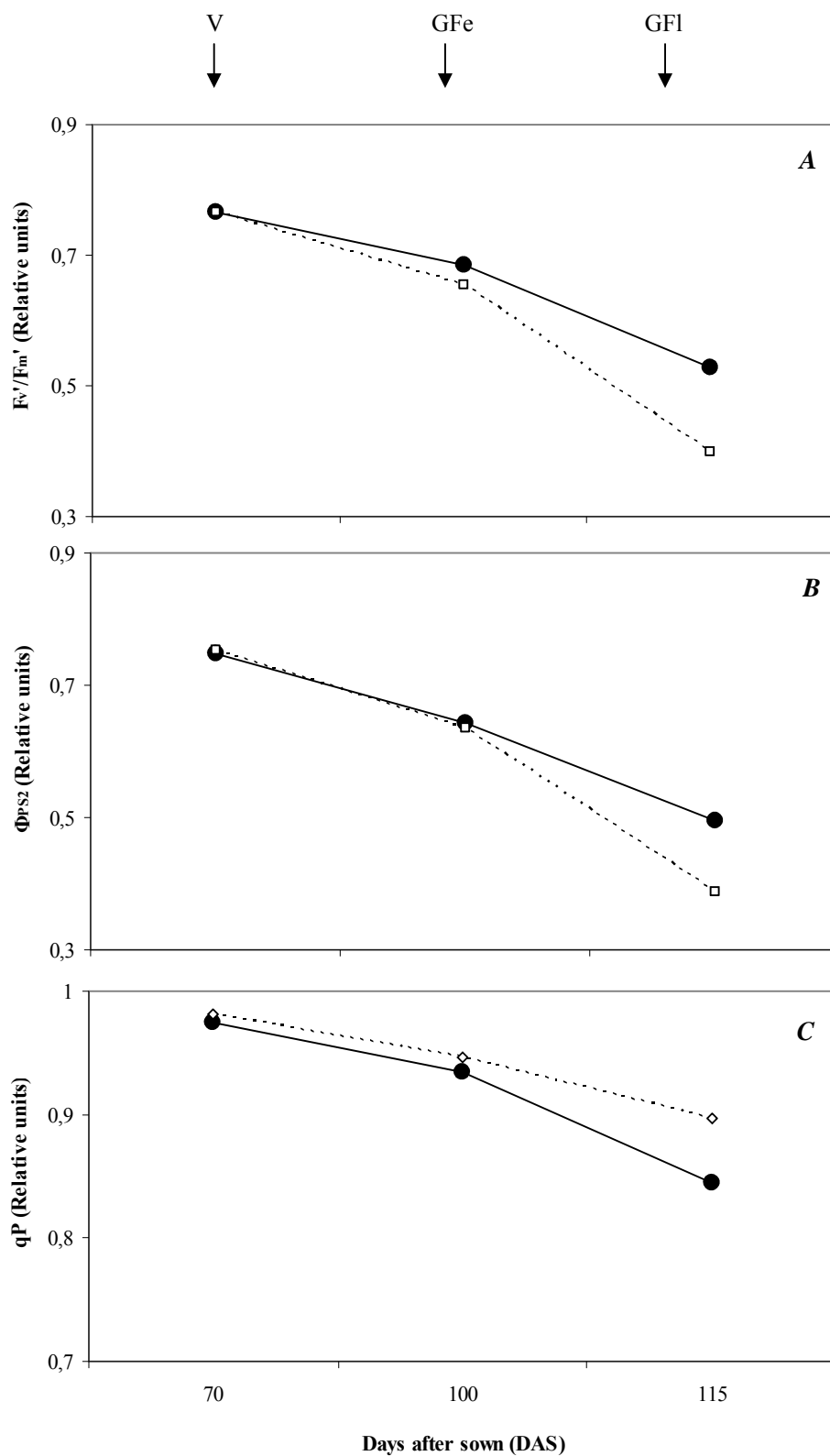


Fig. 2. Changes in chlorophyll fluorescence parameters in light-adapted state in BRS Firmeza (●) and BRS Pelota (□) rice cultivars differing in yield potential during the plant development. V – vegetative stage; GFe – early grain filling stage; GF1 – later grain filling stage.

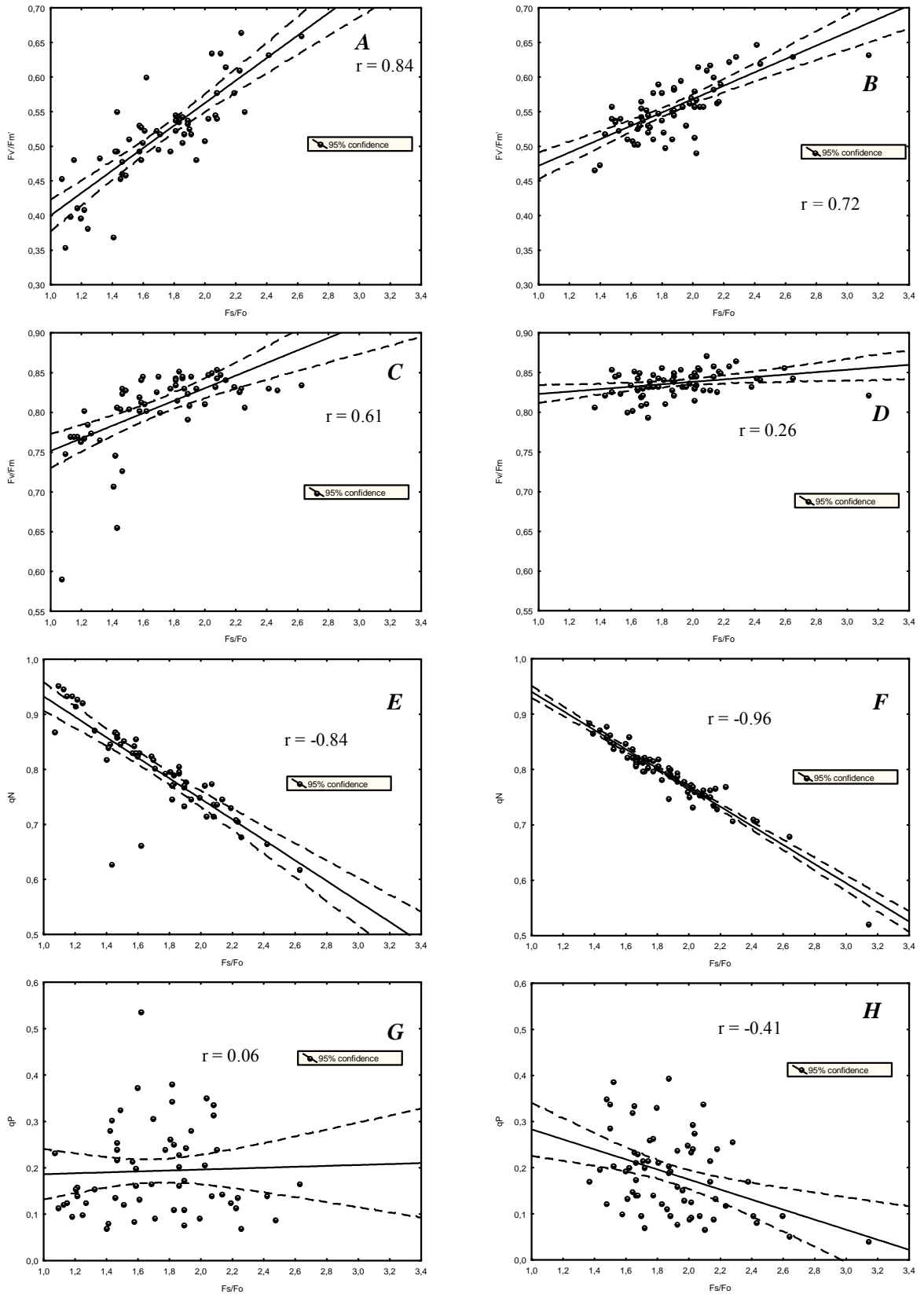


Fig. 3. Relationship between F_s/F_o ratio and Chl fluorescence parameters (F_v/F_m , F_v'/F_m' , q^N and q^P) measured during the development of BRS Pelota (A,C,E,G) and BRS Firmeza (B,D,F,H) rice cultivars differing in yield potential.

Artigo 6

Physiological analysis of two rice cultivars (*Oryza sativa* L.) with yield potential differences based on chlorophyll fluorescence measurements

Antelmo Ralph Falqueto, Daniela Cassol, Ariano Martins de Magalhães Júnior,
Antônio Costa de Oliveira, Marcos Antonio Bacarin

[Submetido à publicação no periódico *Plant Science* (ISSN 0168-9452),
Madison, Estados Unidos, 2007]

Physiological analysis of two rice cultivars (*Oryza sativa* L.) with yield potential differences based on chlorophyll fluorescence measurements

Antelmo Ralph Falqueto^{a3}, Daniela Cassol^a, Ariano Martins de Magalhães Júnior^b, Antônio Costa de Oliveira^c, Marcos Antonio Bacarin^a

^a Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas-RS, Brazil.

^b Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado. 96001970, Pelotas-RS, Brazil.

^c Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96010900, Pelotas/RS, Brazil.

Abstract

With *indica* rice BRS Pelota (high yield) and *tropical japônica* rice BRS Firmeza (low yield) as materials, chlorophyll and carotenoid content, chlorophyll *a/b* ratio, Chl *a* fluorescence parameters and photosynthetic oxygen evolution were measured from the top to the bottom leaves (1st – 4th) at early and late developmental stages in greenhouse conditions. Chl and Car content, Chl *a/b* ratio, F_v/F_m , F_s/F_o , electron transport (ETR) and oxygen evolution (OER) rates decreased with depth of the canopy in both cultivars during both developmental stages. However, the drop of photosynthetic pigment content and PS2 photochemical efficiency was lower in BRS Firmeza when compared to BRS Pelota, indicating that BRS Firmeza rice cultivar was able to maintain a functional photosynthetic apparatus during whole plant development. In addition, F_v'/F_m' values reduced in BRS Pelota with depth of the canopy during the late GF stage. In BRS Firmeza, F_v'/F_m' increased slightly from the top to the bottom leaves, while it decreased significantly at late GF stage. The variation dynamics of photochemical quenching (qP) values were similar to that observed for Φ_{PS2} in both rice cultivars. All these results reflect the presence of *stay green* gene in *tropical japônica* rice BRS Firmeza, which is responsible for retarding leaf senescence.

Keywords: PS2 photochemistry efficiency; Oxygen evolution rate; Photochemical quenching yield; Stay green

³ Corresponding author; fax: +55 53 3275 7169, e-mail: antelmofalqueto@yahoo.com.br

Abbreviations: Chl – chlorophyll; Car – carotenoids; DAS – dark-adapted state; LAS – light-adapted state; PS2 – photosystem 2; F_o – minimum fluorescence yield in DAS; F_o' – minimum Chl fluorescence yield in LAS; F_m – maximum Chl fluorescence yield in DAS; F_m' – maximum Chl fluorescence yield in LAS; F_v – variable chlorophyll fluorescence; F_v' – maximum variable Chl fluorescence yield in LAS; F_s – steady-state Chl fluorescence yield; F_v/F_m – maximal efficiency PS2 photochemistry measured in DAS; F_s/F_o – F_s normalized to F_o ; F_v'/F_m' – effective efficiency of PS2 photochemistry measured in LAS; q^P – photochemical quenching of Chl fluorescence; Φ_{PS2} – effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 in LAS; OER – oxygen evolution rate; ETR – electron transport rate through PS2; PPFD – photosynthetic photon flux density.

1. Introduction

A normal event in the life cycle of plants is senescence [1]. It is a sequence of complex degenerative processes that are initiated at full maturity and ultimately lead to eventual leaf death [2-4]. The most remarkable events in leaf senescence are the loss of Chl and the disassembly of the photosynthetic apparatus, resulting in decreases of photosynthetic energy conversion capacity and efficiency. Also, there is a concurrent decline in chain electron transport for those components remaining in the leaf [5-7]. The decreased PS2 electron transport may be due to an inactivation of the oxygen evolution system and the PS2 reaction center complex as well as the inhibition of energy transfer from Car to Chl [8]. In addition, senescence also affects the composition of the antenna system of photosynthesis. According to Kura-Hotta et al. [9], the Chl *a* disappears more rapidly than Chl *b* during senescence, resulting in a decrease in the Chl *a/b* ratio.

Many studies relating the senescence of rice leaves have been reported [9-14]. Historically, research on biochemical changes that occur during leaf senescence has focused on loss of photosynthetic pigments, degradation of protein, and re-absorption of mineral nutrients [7]. Recently, reductions in PS2 activity, expressed through the analyses of Chl fluorescence and electron transport chain have been examined during the senescence of leaves of different cultivars of super high-yielding hybrid rice [14-15]. However, most of these investigations to date have focused on senescence processes at single leaf levels.

In this report, we address senescence with depth of canopy by investigation of changes in photosynthetic pigments and Chl *a* fluorescence parameters in all different leaves during the reproductive developmental stage of rice cultivars differing in yield potential. Chl *a* fluorescence has been shown to be a non-invasive and reliable method to assess the changes in the function of PS2 under different environmental conditions [16]. The use of this method to assess PS2 photochemistry during leaf senescence in cultivars with grain yield potential differences is important because it gives novel insights about the fundamental processes of energy absorption, utilization and dissipation of excess excitation energy by PS2 in cereal crop plants during senescence. Moreover, leaf senescence pattern is commonly variable with depth of canopy and differences in leaf senescence should exist among cultivars, and might contribute to the observed differences in grain yield.

In the present study, *indica* rice cultivar BRS Pelota and a *tropical japônica* rice cultivar BRS Firmeza, presenting high and low grain yields, respectively, were chosen as a model for senescence studies. *Tropical Japônica* rice BRS Firmeza presents a *stay green* phenotype and, thus, it has shown later senescence than *indica* rice BRS Pelota. The *stay green* trait may result from (1) a delay in the onset of leaf senescence, (2) a reduced rate of senescence associated deterioration once senescence starts, or (3) the inhibition of one of the partial process involved in Chl breakdown [17-18]. On the theoretical basis, the *stay green* trait may result in different impacts on grain yield, as result of delay in the onset of leaf senescence or by a lower photosynthetic decline rate, extending the assimilatory capacity of the canopy, which contribute to higher grain formation [18-19].

In this work we evaluated the photosynthetic pigment content, Chl *a* fluorescence, electron transport and oxygen evolution rates in two rice genotypes (*indica* cultivar BRS Pelota and *tropical japônica* cultivar BRS Firmeza) differing in grain yield capacity. The analyses were made from the top to the bottom leaves during the early and late grain filling stages.

2. Material and methods

2.1. Plant growth conditions

Rice plants (*Oryza sativa* L.) from cultivars BRS Firmeza (*tropical japônica*) and BRS Pelota (*indica*) were grown to the ripening stage (about 4-5 months) in a greenhouse under natural light conditions. These cultivars were chosen because of their difference in grain yield potential (7.5 and 10 t ha⁻¹ for BRS Firmeza and BRS Pelota, respectively). BRS Firmeza presents a *stay green* phenotype, characterized by an extended leaf green color period than BRS Pelota rice cultivar. A randomized complete design with ten replicates was used for each rice cultivar. Each replicate was constituted to one plastic pot (12 L) filled with soil fertilized according to official guidelines [20]. Twenty-five seeds were sown in each pot. In order to obtain uniform plants, the seedlings of each pot were thinned from 25 to 5 per pot after the appearance of the second leaf. Thereafter, a water depth of 3 to 5 cm was maintained until maturity. The experiment was carried out with the leaf samples collected from the plants during the early (100 days) and later (115 days) grain filling stages. The changes in photosynthetic pigment content, Chl fluorescence parameters and oxygen evolution rate in flag (referred as 1st leaf), second, third and fourth leaves were taken as a senescence index.

2.2. Photosynthetic pigments

Chl and Car were extracted with 80 % acetone [21] and determined in a spectrophotometer according to Lichtenthaler [22].

2.3. Chlorophyll fluorescence measurements

Chl *a* fluorescence was measured with a fluorescence monitoring system *FMS2* (King's Lynn, Norfolk, England) after the leaves were dark-adapted for 20 min. The minimal fluorescence level (F_o) with all PS2 reaction centers open was determined by measuring modulated light, which was enough to avoid any significant variation in fluorescence. The maximal fluorescence level (F_m) with all PS2 reaction centers closed was determined by saturating pulse on dark-adapted leaves. Then, the leaf was continuously illuminated with a white actinic light. The steady-state value of fluorescence (F_s) was reached and a second saturating pulse was imposed to determine the maximal fluorescence level in the light-adapted state (F_m'). The actinic light was then removed and the minimal fluorescence level in the light-adapted state (F_o') was determined by illuminating the leaf with far-red light.

Using both light and dark-adapted state fluorescence parameters, were calculated: (a) the maximal efficiency of PS2 photochemistry in the dark-adapted state (F_v/F_m), (b) the photochemical quenching coefficient $q^p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$, (c) the effective efficiency of PS2 photochemistry ($F_v' - F_m'$), (d) the actual quantum yield of PS2 electron transport in the light-adapted state, $\Phi_{PS2} = (F_m' - F_s)/F_m'$ [23]. Electron transfer rate through PS2 (ETR) was calculated from the fluorescence data according to

the formula from Krall and Edwards [24]: $ETR = \Phi_{PS2} \times 0.85 \times 0.5 \times PPFD$, where 0.85 represents the estimated proportion of incident photons absorbed by leaf (usually 80 %), 0.5 indicates an estimated value of the distribution proportion of energy in PS2 (usually 50 % in C_3 plants) and PPFD indicates the photosynthetic photon flux density.

2.4. Photosynthetic rate

The photosynthetic rate (maximum oxygen evolution rate) was determined using a gas-phase oxygen electrode (Hansatech, King's Lynn, UK). A piece of about 3 cm² was cut from the center of the leaf blade. Photosynthetic measurements were conducted under the following conditions: air temperature of 30 °C and irradiation at 2000 $\mu\text{mol (photon) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The CO₂ was supplied as molar solution of sodium bicarbonate. The photosynthetic rate was calculated when the evolution oxygen curve reached the stability and expressed in $\mu\text{mol (O}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

3. Results and discussion

In this study, we investigated the changes in photosynthetic characteristics with depth of canopy in *indica* rice BRS Pelota and *tropical japonica* rice BRS Firmeza, differing in grain yield, during early and late GF stages. Photosynthetic pigments, Chl fluorescence parameters and photosynthetic rate of 1st – 4th leaves in both rice cultivars during the early and late GF stages are shown in Fig. 1 and Table 1. The total Chl content, Chl *a/b* ratio and carotenoids of leaves decreased during senescence with the depth of the canopy in both rice cultivars and stages, except for 2nd leaf of BRS Firmeza during the late GF stage, which showed a higher photosynthetic pigment content than flag leaf (Fig. 1D). These results indicate that the senescence of rice leaves may not be a simple function of leaf age as indicated by Biswas et al. [10]. Thus, the highest photosynthetic pigment content of the 2nd leaf in BRS Firmeza appears to be an intrinsic characteristic of that rice cultivar, indicating that leaf senescence is primarily under genetic control [12,25]. BRS Firmeza shows a *stay green* phenotype, characterized by an extended leaf green color period [26]. Thus, BRS Firmeza can arise from delays in the initiation of senescence and its rate of progress as previously indicated by Rampino and co-workers [19]. In our previous study, we observed that the timing of decrease in the Chl content of the flag leaf indicated that the senescence process in BRS Firmeza was delayed in at least 2 weeks when compared to *indica* rice BRS Pelota (data not show). Thus, although the loss of Chl and the concurrent yellowing of the leaves are convenient and distinctive indicators of leaf senescence, that phenotype can be uncoupled from functional leaf senescence. The *stay green* phenotype used in this report has not yet been physiologically characterized as functional *stay green*. These studies should show that the induction of senescence is paralleled by Chl breakdown which is delayed in those phenotypes.

The well-known phenomenon of leaf senescence is the loss of Chl content. According to Wiedemuth et al. [27] Chl content is a widely used parameter for the degradation of the photosynthetic apparatus in leaves during senescence. As shown in Fig. 1, the Chl *a/b* ratio decreased slightly with depth of canopy for both cultivars during the early GF stage. But during the late GF stage, the changes in Chl

a/b ratio were most significant (Fig. 1B and D). These alterations in Chl *a/b* ratio indicate that there are differential changes in the photosynthetic pigment stoichiometry during the plant late senescence between *indica* rice BRS Pelota and *tropical japônica* rice BRS Firmeza. It is assumed that the conversion of Chl *b* to Chl *a* represents a critical factor for changes in Chl *a/b* ratio [7]. Gossauer and Engel [28] stated that the conversion of Chl *b* to Chl *a* should precede Chl degradation in higher plants. Thus, the differences in Chl *a/b* ratio observed between BRS Pelota and BRS Firmeza rice cultivars should be reflecting genetic differences associated to that conversion capacity relative to each rice cultivar resulting from the presence of *stay green* genes in BRS Firmeza rice cultivar.

The decline of photosynthetic pigment content was consistent with a loss of maximal photochemical efficiency of PS2 (F_v/F_m) especially in *indica* rice BRS Pelota in both stages (Fig. 1 and Table 1). F_v/F_m values were similar between 1st (flag leaf) and 2nd leaves during the early and late GF stages, but it decreased markedly in 3rd and 4th leaves (Table 1). If taking into account the F_v/F_o ratio values, those differences between leaves can be better visualized. Thus, it is also possible to see some, although non-significant (Table 1), loss of maximal photochemical activity in *tropical japônica* rice BRS Firmeza during both developmental stages (Fig 1). This result reflects the presence of *stay green* gene(s) in BRS Firmeza causing the persistence of leaf green color, retarding the decrease of photosynthetic light reactions and extending the assimilatory capacity of the canopy. Our results indicate that the maximal efficiency of PS2 photochemistry showed a lower change with depth of canopy in BRS Firmeza. Therefore, the PS2 apparatus remains functional for longer periods in senescent leaves of the rice cultivar characterized by a *stay green* phenotype. In other words, BRS Firmeza is able to maintain a continued efficient energy transfer and capture in the remaining PS2 apparatus.

We also observed a declined F_v'/F_m' values in *indica* rice BRS Pelota with depth of the canopy. This decrease in F_v'/F_m' was higher during the late GF stage, which reduced from 0.45 in the 1st leaves to 0.32 in the 3rd leaves (Table 1). In contrast, F_v'/F_m' was slightly higher with depth of the canopy in BRS Firmeza during the early GF, which reached 0.66 in the flag leaf and 0.68 in the fourth leaf (Table 1). However, these results were completely reversed when plants reached late GF (Fig. 1C and D, Table 1). Thus, in BRS Firmeza plants, the GF process resulted in an effective photochemical efficiency decreased with depth of canopy. F_v'/F_m' express the effective efficiency of PS2 photochemistry measured in light-adapted samples [29]. Thus, the earlier loss of effective photochemical efficiency should be a good indicator of senescence in BRS Pelota plants, showing that the rice cultivar with higher grain yield capacity senesces before the one with lower grain yield. Concerning the physiological significance of the senescence and its relationship with assimilate partitioning in plants, these results suggest that the higher productivity of BRS Pelota rice cultivar results from its higher assimilate mobilization ability, in despite of its lower light absorption capacity. These results are supported by that lowest Chl content and F_v/F_m values obtained in BRS Pelota in both developmental stages, which were strongly reduced with depth of canopy (Table 1).

In addition, note that the decline in F_v'/F_m' approximately paralleled the decrease in effective quantum yield of photochemical energy conversion in PS2 (Φ_{PS2}) in *tropical japônica* BRS Pelota rice (Fig. 1a-b). In BRS Firmeza, however, we observed highly contrasting results (Fig. 1c-d). While no variation was observed between Φ_{PS2} and F_v'/F_m' at early GF stage, Φ_{PS2} values increased with the depth

of the canopy. Analogously, the variation dynamics of photochemical quenching (q^P) values were similar to that observed to Φ_{PS2} (Fig. 1C and D). q^P indicates the photon fraction absorbed by antenna pigment used by PS2 or photochemical electron transport energy [15]. Thus, as showed in Fig. 1d, BRS Firmeza rice cultivar should use more efficiently the energy absorbed by PS2 and convert this energy to a photochemical effect at late grain development stage. The results of q^P in BRS Pelota were less clear than BRS Firmeza. Furthermore, the electron transport rate through PS2 strongly decreased from upper to the lower leaves in both rice cultivars during both developmental stages (Fig. 1). The gradually decreasing changes in ETR were consistent with the changes in F_v/F_m and Chl levels during the plant senescence.

Rates of photosynthetic oxygen evolution (OER) determined on the basis of leaf area changed with depth of canopy in both rice cultivars (Fig. 1). The higher decreases occurred in the lower leaves, at least during the late GF stage. Although some variation has been observed in OER between leaves, those differences were not statistically significant ($p \leq 0.05$) (Table 1). These results were consistent with those obtained by Kura-Hotta et al. [9], which showed that OER remained fairly constant among leaves at different positions. Recently, again no differences were observed in OER between 1st and 2nd leaves in both IR58025a and IR58025B normal and fertility rice lines during the flowering and later grain filling stages [30]. However, opposite results had been observed previously in rice plants. Yamazaki et al. [12] reported that the OER decreased with the depth of the canopy except for the 2nd leaves, which showed an OER similar to that of the 1st leaves (flag leaves). That result was consistent to increase in Chl levels, which were higher in the 5th leaves, and then decreased from the top to the bottom leaves. Thus, the OER appears to be closely related to Chl content, at least during the first week of plant development.

Although conventional plant breeding continues to produce new varieties with increased yield, the magnitude of these increases is falling indicating that a plateau is being reached with the major yield limiting factor being grain number [19]. The exploitation of *stay green* phenotypes of the type described here should potentially increase yields above this plateau, through a decrease in the of photosynthetic decline rate and an extension of the assimilatory capacity of the plant canopy. Further studies will be required to determine whether the *stay green* phenotype has impacts on seed size, seed number or both of these major yield determinants.

In summary, the results in this study have shown that PS2 apparatus remains more functional in senescent leaves of *tropical japonica* BRS Firmeza with depth of canopy than that of *indica* BRS Pelota rice plants. Thus, the presence of *stay green* gene in BRS Firmeza retarded leaf senescence. In addition, the earlier loss of photochemical efficiency (F_v/F_m and F_v'/F_m') constituted a good indicator of senescence in BRS Pelota, indicating that other physiological process are most responsible by its higher productivity.

Acknowledgments The authors thank to MCT/CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil and FAPERGS - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, Brazil – for financial support.

References

- [1] L. Borrás, G.A. Maddonni, M.E.Otegui, Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects, *Field Crops Res* 82 (2003) 13-26.

- [2] P.J. Camp, S.C. Huber, J.J. Burke, D.E. Moreland, Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves, *Plant Physiol* 70 (1982) 1641-1646.
- [3] H. Thomas, H.J. Ougham, C. Wagstaff, A.D. Stead, Defining senescence and death, *J. Exp. Bot.* 54 (2003) 1127-1132.
- [4] Y. Tang, X. Wen, C. Lu, Differential changes in degradation of chlorophyll-protein complexes of photosystem I and photosystem II during flag leaf senescence of rice, *Plant Physiol Bioch* 43 (2005) 193-201.
- [5] W.W. Adams, K. Winter, U. Schreiber, P. Schramel, Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigments and element composition of leaves of *Platanus accidentalis* L. during autumnal leaf senescence, *Plant Physiol* 93 (1990) 1184-1191.
- [6] X.-Y. Weng, H.-X. Xu, D.-A. Jiang, Characteristics of gas exchange, chlorophyll fluorescence and expression of key enzymes in photosynthesis during leaf senescence in rice plants, *J Integr Plant Biol* 47 (2005) 560-566.
- [7] C.J. Zhang, G.X. Chen, X.X. Gao, C.J. Chu, Photosynthetic decline in flag leaves of two field-grown spring wheat cultivars with different senescence properties, *S African J Sci* 72 (2006) 15-23.
- [8] Q. Lu, C. Lu, J. Zhang, T. Kuang, Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants, *J Plant Physiol* 159 (2002) 1173-1178.
- [9] M. Kura-Hota, K. Satoh, S. Katoh, Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedlings, *Plant Cell Physiol* 28 (1987) 1321-1329.
- [10] A.K. Biswas, M.A. Choudhuri, Mechanism of monocarpic senescence in rice, *Plant Physiol* 65 (1980) 340-345.
- [11] J. Hidema, A. Makino, T. Mae, K. Ojima, Photosynthetic characteristics of rice leaves aged under different irradiances from full expansion through senescence, *Plant Physiol* 97 (1991) 1287-1293.
- [12] J.-Y. Yamazaki, Y. Kamimura, M. Okada, Y. Sugimura, Changes in photosynthetic characteristics and photosystem stoichiometries in the lower leaves in rice seedlings, *Plant Sc* 148 (1999) 155-163.
- [13] Y. Tang, X. Wen, C. Lu, Differential changes in degradation of chlorophyll-protein complexes of photosystem I and photosystem II during flag leaf senescence of rice, *Plant Physiol Bioch* 43 (2005) 193-201.
- [14] X.-Y. Weng, H.-X. Xu, D.-A. Jiang, Characteristics of gas exchange, chlorophyll fluorescence and expression of key enzymes in photosynthesis during leaf senescence in rice plants, *J Integr Plant Biol* 47 (2005) 560-566.
- [15] D. Jiao, B. Ji, X. Li, Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice, *Photosynthetica* 41 (2003) 33-41.
- [16] G.H. Krause, E. Weis, Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics, *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol* 42 (1991) 313-349.
- [17] H. Thomas, C.J. Howarth, Five ways to stay green, *J. Exp. Bot.* 51 (2000) 329-337.
- [18] V.M. Luquez, J.J. Guiamét, Effects of the “stay green” genotype *GGd1d2d2* on leaf gas exchange, dry matter accumulation and seed yield in soybean (*Glycine max* L. Merr.), *Ann Bot* 87 (2001) 313-318.

- [19] P. Rampino, G. Spano, S. Pataleo, G. Mita, J.A. Napier, N. Di Fonzo, P.R. Shewry, C. Perrotta, Molecular analysis of a durum wheat “stay green” mutant: Expression pattern of photosynthesis-related genes, *J Cereal Sci* 43 (2006) 160-168.
- [20] Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI). Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Pelotas, RS: SOSBAI, 2007. 164p.
- [21] D.I. Arnon, Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol* 24(1949) 1-15.
- [22] H.K. Lichtenthaler, Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology* 148 (1987) 350-382.
- [23] B. Genty, J.M. Briantais, N.R. Baker, The relationship between the quantum yield of the photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochim Biophys Acta* 990 (1989) 87-92.
- [24] J.P. Krall, G.E. Edward, Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves, *Physiol Plant* 86 (1992) 180-187.
- [25] K. Okada, Two long term effects of light that control the stability of proteins related to photosynthesis during senescence of rice leaves, *Plant Cell Physiol* 39 (1998) 394-404.
- [26] A.M. Magalhães Jr, A.S. Gomes, Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático. Embrapa Clima Temperado (2003)13-33, Documento 113.
- [27] K. Wiedemuth, J. Muller, A. Kahlau, S. Amme, H.-P. Mock, A. Grzam, R. Hell, K. Egle, H. Beschow, K. Humbeck, Successive maturation and senescence of individual leaves during barley whole plant ontogeny reveals temporal and spatial regulation of photosynthetic function in conjunction with C and N metabolism, *J Plant Physiol* 162 (2005) 1226-1236.
- [28] A. Gossauer, N. Engel, New trends in photobiology: chlorophyll catabolism-structures, mechanisms, conversions, *J Photoch Photobiol B* 32 (1996) 141-151.
- [29] K. Roháček, Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships, *Photosynthetica* 40 (2002) 13-29.
- [30] M.A. Bacarin, A.R. Falqueto, J.L.M. Coimbra, A.C. Oliveira, A.M. Magalhães Jr, Oxygen evolution rate of rice cultivars, *Photosynthetica* 46 (2008), 148-150.

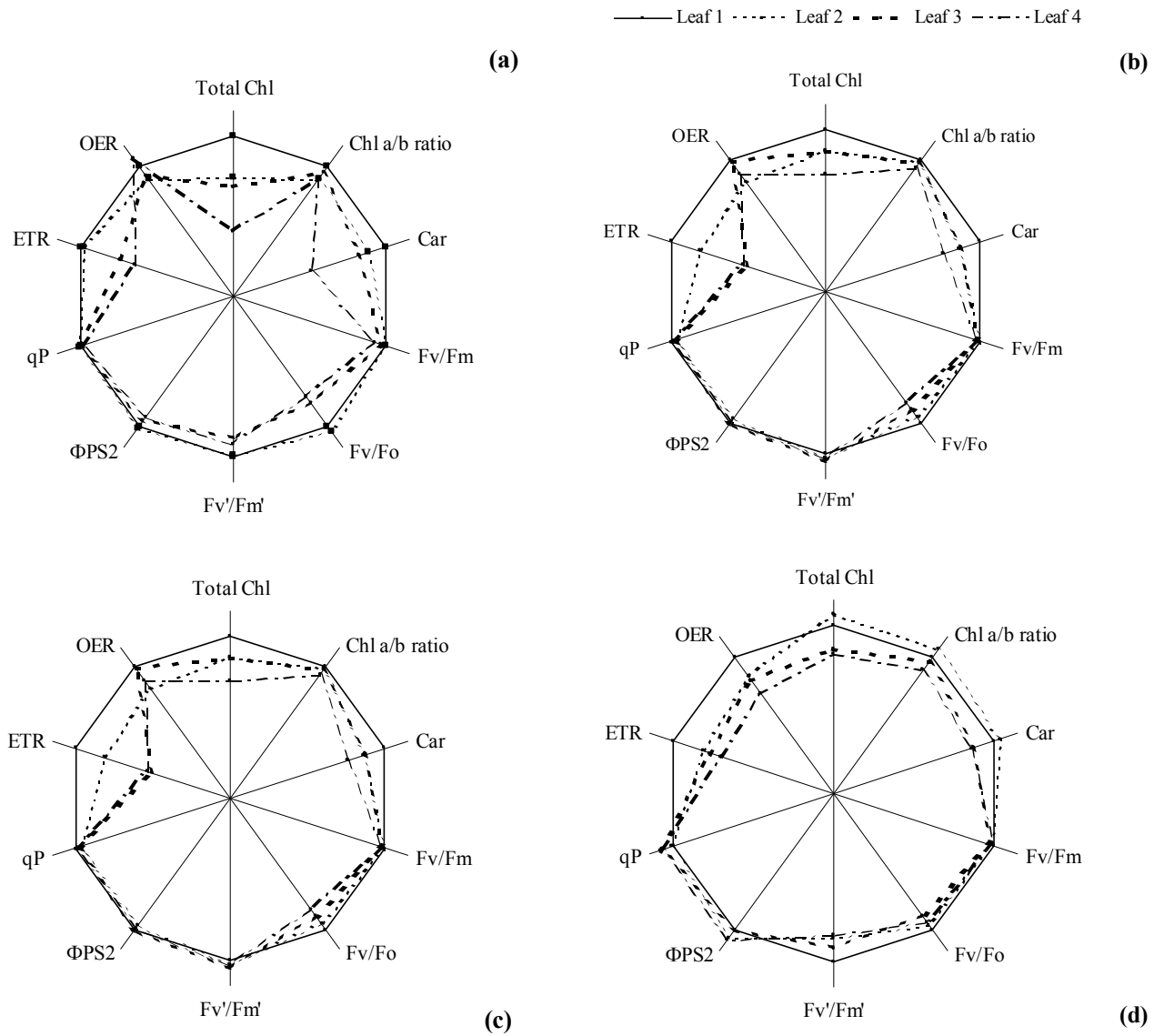


Fig.1. Photosynthetic pigment contents, Chl fluorescence parameters, electron transport rate through PS2 and oxygen evolution rate in rice leaves with depth of canopy of *indica* BRS Pelota (a-b) and *tropical japonica* BRS Firmeza (c-d) rice cultivar differing in yield potential at early (a and c) and later (b and d) grain filling stage. All values are expressed relative to the values of the first leaf (flag leaf), which was referred as a control (control reference = 1) (n=5)

Table 1. Chl content ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{FM}$), of maximal photochemical efficiency of PS2 (F_v/F_m), effective photochemical efficiency of PS2 (F_v'/F_m') and oxygen evolution rate (OER - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in rice leaves with depth of canopy of BRS Pelota and BRS Firmeza rice cultivar differing in yield potential at early and later grain filling stage. (n=5)

Parameters	Leaf position	BRS Pelota		BRS Firmeza	
		GF ₁	GF ₂	GF ₁	GF ₂
Total Chl ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FM}$)	1 st	3.29 a	2.16 a	3.13 a	1.76
	2 nd	2.18 b	1.96 a	2.60 ab	1.49
	3 rd	1.91 b	0.54 b	2.59 ab	1.05
	4 th	0.74 b	-	1.99 b	1.23
F_v/F_m	1 st	0.838 a	0.835 a	0.847	0.838
	2 nd	0.836 a	0.797 a	0.847	0.831
	3 rd	0.800 ab	0.678 b	0.829	0.817
	4 th	0.749 b	-	0.825	0.828
F_v'/F_m'	1 st	0.714	0.450	0.664	0.602 a
	2 nd	0.698	0.422	0.685	0.495 b
	3 rd	0.601	0.326	0.709	0.538 ab
	4 th	0.635	-	0.684	0.477 b
OER [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	1 st	28.90	33.7	37.90	34.8
	2 nd	24.90	29.9	29.07	28.3
	3 rd	26.30	28.8	35.10	27.4
	4 th	31.07	-	31.20	22.9

(-) leaves fully senescent

Artigo 7

**Crescimento e partição de assimilados em cultivares de
arroz (*Oryza sativa* L.) diferindo no potencial de
produção de grãos**

Antelmo Ralph Falqueto, Daniela Cassol, Ariano Martins de Magalhães Júnior,
Antônio Costa de Oliveira, Marcos Antonio Bacarin

[Submetido à publicação no periódico *Bragantia* (ISSN 0006-8705), Campinas,
Brasil, 2008]

**CRESCIMENTO E PARTIÇÃO DE ASSIMILADOS EM CULTIVARES DE
ARROZ (*Oryza sativa* L.) DIFERINDO NO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE
GRÃOS**

ANTELMO RALPH FALQUETO¹, DANIELA CASSOL¹, ARIANO MARTINS DE
MAGALHÃES JÚNIOR², ANTÔNIO COSTA DE OLIVEIRA³, MARCOS ANTONIO
BACARIN¹♦

RESUMO

Foram estudados o crescimento, a partição de assimilados e a produção de grãos nas cultivares de arroz BRS Pelota (maior produtividade) e BRS Firmeza (menor produtividade). O experimento foi conduzido em casa de vegetação (Departamento de Botânica – Universidade Federal de Pelotas), com delineamento experimental inteiramente casualizado, com duas cultivares, nove coletas e quatro repetições. A cultivar BRS Pelota apresentou maior acúmulo de matéria seca total (W_t), principalmente ao final do ciclo, bem como maior área foliar (A_f). A matéria seca alocada para o colmo + bainha e às panículas também foi maior em BRS Pelota. Porém, a porcentagem de W_t destinada às panículas aos 125 DAE foi semelhante entre as cultivares. Em BRS Firmeza, o aumento em W_t nas raízes pode ter influenciado o direcionamento de fotoassimilados para os grãos e contribuído para o atraso na senescência das plantas. A produtividade de BRS Pelota foi maior que a de BRS

♦ Autor para correspondência; fax: 53 3275 7169. E-mail: bacarin@ufpel.edu.br

⁽¹⁾ Laboratório de Metabolismo Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas-RS, Brasil.

⁽²⁾ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado. 96001970, Pelotas-RS, Brasil.

⁽³⁾ Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96010900, Pelotas/RS, Brasil.

Abreviações: DAE – dias após a emergência; W_t - matéria seca total; C_t - taxa de produção de matéria seca da parte aérea; R_w - taxa de crescimento relativo da parte aérea; A_f - área foliar das lâminas verdes; R_a - taxa de crescimento relativo da área foliar; C_a - taxa de produção de área foliar; E_a - taxa assimilatória líquida; F_a - razão de área foliar; F_w - razão de peso foliar; S_a - área foliar específica.

Firmeza (17,4 contra 11,8 g vaso⁻²) e o seu número de panículas foi três vezes superior em relação à cultivar BRS Firmeza. O componente de produção de maior expressão no rendimento foi o número de panículas. A maior produtividade da cultivar BRS Pelota pode estar relacionada à maior área foliar e sua duração, o que permite o fornecimento de elevada quantidade de fotoassimilados por um período maior.

Palavras-chave: matéria seca, análise de crescimento, área foliar, BRS Firmeza, BRS Pelota.

GROWTH AND ASSIMILATES PARTITIONING IN RICE CULTIVARS (*Oryza sativa* L.) DIFERING IN GRAIN YIELD POTENTIAL

ABSTRACT

The growth, assimilate partitioning and grain yield in BRS Pelota (higher yield) and BRS Firmeza (lower yield) rice cultivars were evaluated. The experiment was conducted in greenhouse (Department of Botany, Federal University of Pelotas) with entirely randomized design composed by two cultivars, nine plant sampling time and four replicates. BRS Pelota rice cultivar presented higher total dry matter accumulated (W_t), mainly to end of life cycle, as well a higher leaf area (A_f). The dry matter allocated toward culm + sheath and panicles was higher in BRS Pelota. However, the W_t percentage accumulated in panicles at 125 DAE was equal between cultivars. In BRS Firmeza, the increase in W_t in the roots should had been influenced the photoassimilates partitioning toward grains and contributed to the lacking in plant senescence. The grain yield of BRS Pelota was higher than BRS Firmeza (17.4 versus 11.8 g vaso⁻²), and their panicle number was three times greater in relation to BRS Firmeza. The yield

component which presented higher relevance for productivity was the panicle number. The higher grain yield of BRS Pelota could be related to higher leaf area and their leaf area duration, which permits the providing of elevated quantity of photoassimilates by higher period time.

Key words: Dry matter, growing analysis, leaf area, BRS Firmeza, BRS Pelota.

1. INTRODUÇÃO

A análise de crescimento é um método que descreve as mudanças na produção vegetal em função do tempo, e propõe-se a acompanhar a dinâmica da produção fotossintética avaliada por meio do acúmulo de matéria seca, o que não é possível com o simples registro do rendimento (RODRIGUES et al., 1993; URCHEI et al., 2000). Ela constitui um dos primeiros passos na análise da produção primária de uma cultura (KVET et al., 1971). PEREIRA e MACHADO (1987) afirmam que a análise de crescimento representa a referência inicial na avaliação de produção das espécies vegetais, requerendo informações que podem ser obtidas sem a necessidade de equipamentos sofisticados. Tais informações são a quantidade de material contido na planta toda e em suas partes (folhas, caules, raízes e grãos) e o tamanho do aparelho fotossintetizante (área foliar), obtidos em intervalos de tempo regulares durante o desenvolvimento fenológico da planta (URCHEI et al., 2000). Neste contexto, a análise do crescimento pode ser utilizada para avaliar: adaptação ecológica das plantas a novos ambientes, competição interespecífica, efeitos de sistemas de manejo, modificação do regime de irradiância, tratamento com elicitores e fungicidas, além de permitir uma

avaliação da capacidade produtiva de diferentes genótipos (SANTOS e COSTA, 1995; BACARIN et al., 1997; FRANÇA et al., 1999; ANTONIAZZI e DESCHAMPS, 2006).

Recentemente, a produtividade contrastante observada entre diferentes genótipos de arroz tem sido justificada por meio das diferenças na dinâmica da distribuição de assimilados entre órgãos durante o crescimento e o desenvolvimento das plantas (NTANOS e KOUTROUBAS, 2002). Essa distribuição de fotoassimilados entre órgãos pode ser alterada durante o enchimento dos grãos e limitações no ganho de biomassa podem ocorrer em um dado momento do desenvolvimento da planta (CRUZ-AGUADO et al., 2001). Em arroz, o padrão de distribuição de matéria seca ao longo do período de desenvolvimento das plantas foi descrito por SANTOS e COSTA (1995), FRANÇA et al. (1999) e NTANOS e KOUTROUBAS (2002). Os resultados obtidos nestes estudos mostraram que a produção de matéria seca e a translocação de fotoassimilados contribuíram significativamente para o desenvolvimento dos grãos em diferentes cultivares. Além disso, variações nestes parâmetros de translocação foram muito evidentes entre plantas pertencentes às subespécies *indica* e *japônica*, revelando maior produção de matéria seca e maior mobilização dos fotoassimilados em cultivares caracteristicamente de ciclo longo (NTANOS e KOUTROUBAS, 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar, comparativamente, características de crescimento e de partição de assimilados em cultivares de arroz (BRS Pelota e BRS Firmeza) com produtividade contrastante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas duas cultivares de arroz, BRS Pelota (*indica*) e BRS Firmeza (*japônica tropical*), com distinta capacidade de produção de grãos. BRS Pelota é uma cultivar originária de plantas selecionadas de uma população heterogênea da cultivar

gaúcha BR-IRGA 410. Apresenta uma alta capacidade de perfilhamento e alto potencial produtivo (10 t ha^{-1}). A cultivar BRS Firmeza é originária de cruzamento múltiplo realizado na Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, pertencente ao grupo de plantas moderno/americano. Com pouca capacidade de perfilhamento, é caracterizada também por apresentar o fenótipo *stay green* e produtividade próxima de $7,5 \text{ t ha}^{-1}$ (MAGALHÃES JR. et al., 2003).

O experimento foi instalado em casa de vegetação (Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS), onde a temperatura média do ar foi, em média, de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, densidade de radiação fotossinteticamente ativa, medida às 9h, igual a $460 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e regime de irrigação controlado. Vinte e cinco sementes de cada cultivar foram semeadas em vasos plásticos com capacidade para 12 litros, preenchidos com solo fertilizado de acordo com as normas técnicas para o cultivo do arroz no Estado do Rio Grande do Sul (SOSBAI, 2007). Após a emergência das plantas, quando 50% das plântulas apresentavam o coleótilo exposto acima do solo, realizou-se um desbaste, permanecendo uma planta por vaso. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, com duas cultivares, nove coletas e quatro repetições.

As amostragens iniciaram-se ao 14° DAE, correspondente, de acordo com a escala de COUNCE et al. (2000), ao estágio de crescimento V_2 - V_3 e foram repetidas em intervalos regulares de 14 dias até o final do ciclo (R_8). As amostragens consistiram na determinação da área foliar e matéria seca de cada parte da planta. Em cada coleta, as plantas foram separadas em parte aérea (lâminas foliares verdes, lâminas foliares senescentes, colmo mais bainha e panículas) e raiz.

A área foliar das lâminas verdes (A_f) foi estimada utilizando-se um medidor de área foliar marca LICOR (Modelo Li-3100). Para a determinação da matéria seca, as

amostras de raiz, colmo mais bainha, lâminas foliares verdes, lâminas foliares senescentes e panículas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa à temperatura de 70°C, onde foram mantidas por 72 horas.

Os dados primários de matéria seca total (W_t) foram ajustados pela equação logística $W_t = W_m \cdot (1 + B e^{-Ct})^{-1}$, sendo W_t a variável dependente; W_m a estimativa assintótica do crescimento máximo; B e C as constantes de ajustamento; e a base natural de logaritmo neperiano e t o tempo após a emergência, em dias (RICHARDS, 1969). Para os valores primários de área foliar, o ajuste das equações foi realizado empregando-se polinômios ortogonais, elegendo-se o polinômio que melhor se ajustasse aos valores observados de A_f (RICHARDS, 1969). Os valores instantâneos da taxa de produção de matéria seca da parte aérea (C_t) e da taxa de produção de área foliar (C_a) foram determinados por meio da derivada da equação ajustada da matéria seca e da área foliar, em relação ao tempo, respectivamente (RADFORD, 1967; RICHARDS, 1969). Os valores instantâneos da taxa de crescimento relativo da parte aérea (R_w) e da taxa de crescimento relativo da área foliar (R_a) foram obtidos pelas fórmulas $R_w = C_t \cdot W_t^{-1}$ e $R_a = C_a \cdot A_f^{-1}$. A estimativa dos valores instantâneos da taxa assimilatória líquida (E_a) foi feita utilizando-se os valores de C_t e A_f , através da equação $E_a = C_t \cdot A_f^{-1}$. A razão de área foliar (F_a), a razão de peso foliar (F_w) e a área foliar específica (S_a) foram determinadas a partir dos valores instantâneos de A_f , W_t e W_f (matéria seca das folhas), empregando-se as equações $F_a = A_f \cdot W_t^{-1}$, $F_w = W_f \cdot W_t^{-1}$ e $S_a = A_f \cdot W_f^{-1}$, de acordo com RADFORD (1967).

Ao término do experimento (125 DAE) foram determinados a produção de grãos, o peso de mil grãos e o número de panículas por planta para cada cultivar. Estes resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando os

valores de F foram significativos, realizou-se um teste de médias Tukey em nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acúmulo de matéria seca total (W_t) em relação às mudanças ontogenéticas mostrou que as diferenças entre as cultivares aumentaram ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas e apresentou um comportamento logístico para ambas as cultivares (Figura 1a). BRS Pelota e BRS Firmeza mostraram um crescimento lento na fase inicial do desenvolvimento (até aproximadamente 42 DAE - estádios V7-V8), seguida por uma fase de rápido crescimento até 83 DAE (R_3 - R_4) em BRS Firmeza e 97 DAE em BRS Pelota (R_5 - R_6) (Figura 1a). Essas variações na produção biológica entre as cultivares certamente refletem a duração do ciclo de desenvolvimento das plantas, como observado por SANTOS e COSTA (1995) em plantas de arroz de sequeiro cv. Araguaia e Guarani, de ciclos médio e precoce, respectivamente. Até os 83 DAE, as diferenças no acúmulo de matéria seca total entre BRS Pelota e BRS Firmeza foram praticamente inexistentes. A partir desse período, as diferenças em W_t entre as cultivares passaram a ser maiores, tornando-se muito evidentes ao final do ciclo (125 DAE).

A taxa de produção de matéria seca (C_t) (Figura 1b) avalia o crescimento do vegetal relacionando a quantidade de material orgânico acumulado graças à área de solo disponível por unidade de tempo (SANTOS e COSTA, 1995). Neste sentido, diferenças distintas entre as cultivares estudadas com relação à C_t foram: a) o tempo em que cultivares atingiram o ponto máximo de C_t , o qual, para BRS Pelota, foi prolongado por 15 dias em relação à cv BRS Firmeza e b) o valor máximo C_t , cujo valor foi superior

para a cv. BRS Pelota. Se, por um lado, a taxa máxima de produção de matéria seca ocorreu aos 70 DAE em BRS Firmeza, como reflexo do seu ciclo de desenvolvimento curto, por outro, a maior produção de perfilhos, característica morfológica distintiva em BRS Pelota, pode fornecer uma justificativa plausível para o seu valor máximo superior de C_t .

A taxa de crescimento relativo da parte aérea (R_w), expressão do incremento de massa seca em relação à biomassa preexistente, apresentou um declínio sistemático no acúmulo de matéria seca em ambas as cultivares ao longo do desenvolvimento fenológico das plantas (Figura 1c). Porém, até 56 DAE, foram observados maiores valores de R_w na cultivar BRS Pelota, indicativo de maior eficiência de conversão de matéria seca nesta cultivar. Este resultado, entretanto, foi completamente revertido a partir desse período de desenvolvimento até aproximadamente 110 DAE (Figura 1c). Reduções em R_w foram também observadas ao longo do desenvolvimento de plantas sorgo (BACARIN et al., 1997), feijão (URCHEI et al., 2000) e de cevada (ANTONIAZZI e DESCHAMPS, 2006). Reduções em R_w são geralmente associadas ao acúmulo contínuo de matéria seca no decorrer do desenvolvimento e pelo declínio da capacidade relativa das plantas em produzir nova biomassa (ANTONIAZZI e DESCHAMPS, 2006). Prováveis elevações na atividade respiratória ao longo do desenvolvimento fenológico, bem como o auto-sombreamento, cuja importância aumenta com a idade da planta, têm sido apontadas também como causas da redução nos valores de R_w (URCHEI et al., 2000). Além disso, na fase final do ciclo de desenvolvimento das plantas, o crescimento torna-se negativo em função da morte de folhas e gemas e aumento gradual de tecido não-assimilatório (MILTHORPE e MOORBY, 1974).

Por conseguinte, ambas as cultivares atingiram área foliar (A_f) máxima aos 97 dias após a emergência. Porém, uma área fotossinteticamente ativa superior foi obtida na cultivar BRS Pelota (Figura 1d). Após esta fase observou-se uma redução em A_f em ambas as cultivares, reflexo do estágio de desenvolvimento das plantas, uma vez que, a partir dos 97 DAE as plantas encontravam-se no estágio inicial de enchimento dos grãos (grãos em estado leitoso, ou R_5 - R_6) e, assim, as folhas mais velhas estavam em processo de senescência. Nas cultivares de cevada BRS 195 e BRS 225, de ciclos longo e curto, respectivamente, ANTONIAZZI e DESCHAMPS (2006) observaram valores de A_f máximos aos 70 DAE, período coincidente ao estágio de emborrachamento das plantas.

A taxa de produção de área foliar (C_a), a qual revela a velocidade de crescimento das folhas ao longo do ciclo de desenvolvimento da planta, atingiu seus valores máximos aos 56 DAE (estádio V_9 - V_{10}) em ambas as cultivares, com posterior declínio (Figura 1e) e as curvas da taxa de crescimento relativo da área foliar (R_a) expuseram valores decrescentes no decorrer do desenvolvimento das plantas (Figura 1f). Os maiores valores de R_a foram obtidos na fase inicial de crescimento das folhas, tanto em BRS Pelota quanto em BRS Firmeza. Embora estas cultivares tenham mostrado o mesmo desempenho ao longo do ciclo, BRS Pelota apresentou valor máximo de R_a em torno de $1,4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e BRS Firmeza, aproximadamente $1,0 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$.

A taxa assimilatória líquida (E_a) expressa o balanço entre a fotossíntese e a respiração da planta e descreve a eficiência da produção líquida do aparelho fotossintético, ou, noutras palavras, o incremento de biomassa por unidade de área foliar e de tempo (WATSON, 1952, NETTO et al., 2000). No período inicial do ciclo de vida das plantas, E_a apresentou valores elevados em ambas as cultivares, especialmente em BRS Pelota (Figura 2a). Estes resultados refletem a menor área foliar existente e, em contrapartida, a elevada capacidade fotossintética dessas folhas jovens e encontram-se

de acordo com os resultados obtidos por ANTONIAZZI e DESCHAMPS (2006) em plantas de cevada cvs. BRS 195 e BRS 225.

Um aumento em E_a foi observado aos 70 e aos 85 DAE para BRS Firmeza e BRS Pelota, respectivamente (Figura 2a). Este aumento pode ser atribuído ao estágio de desenvolvimento das plantas, já que, neste período as plantas encontravam-se na fase conhecida como emborrachamento (R_1 - R_2), período de desenvolvimento que antecede à floração, caracterizado pelo rápido alongamento do colmo e da panícula (CRUSCIOL et al., 2003). A partir daí, E_a decresceu nas duas cultivares, refletindo a redução do crescimento vegetativo das plantas e direcionamento do metabolismo para a fase reprodutiva.

Aumentos na taxa assimilatória líquida ao final do ciclo de algumas culturas como o milho (BRAGA, 1998), batata (NETTO et al., 2000), manjerição (BARREIRO et al., 2006) e trigo (ZEPKA, 2007) também foram observados. A melhoria da eficiência da atividade fotossintética em resposta ao início do processo de senescência das folhas mais velhas ao final do ciclo da cultura, resulta, geralmente, em aumentos na taxa de assimilação líquida (FLOSS e ALVES, 1995; ANTONIAZZI e DESCHAMPS, 2006). Por outro lado, decréscimos antogênicos em E_a foram observados no final do ciclo de desenvolvimento de plantas de tomateiro (PELUZIO et al., 1999). Tal fato pode ser justificado pelas variações intra e interespecíficas desse índice fisiológico, bem como pelo uso de diferentes modelos matemáticos para relacionar parâmetros de área foliar (A_f) e de matéria seca (W_t) com o tempo, gerando comportamento variado em E_a (WATSON, 1952; NETTO et al., 2000).

De forma geral, constatou-se que o comportamento de ambas as cultivares de arroz em relação à E_a foi semelhante ao longo do desenvolvimento das plantas (Figura 2a), exceto no que se refere ao aumento em E_a observado no início do período

reprodutivo. Nesta fase, as diferenças no ciclo foram expressivas e refletiram o aumento antecipado da taxa assimilatória líquida na cultivar BRS Firmeza, de ciclo curto (Figura 2a). Entretanto, os valores de E_a no início e no final do ciclo de desenvolvimento das plantas foram muito próximos e consistentes com os resultados obtidos em cevada (ANTONIAZZI e DESCHAMPS, 2006), indicando que a menor duração do ciclo da cultivar BRS Firmeza pode ser compensada por um maior investimento em arquitetura foliar.

As curvas da razão de área foliar (F_a) evidenciaram um aumento acelerado durante o período de crescimento vegetativo (Figura 2b), ou seja, até 42 DAE (V_7 - V_8), em ambas as cultivares, indicando que, nessa fase, a maior parte do material fotossintetizado é convertida em folhas, para maior captação da radiação solar disponível (URCHEI et al., 2000). A partir desse período observaram-se decréscimos com a idade das plantas, decorrentes do surgimento de tecidos e estruturas não assimilatórias, além do auto-sombreamento, senescência e queda de folhas. Entretanto, as cultivares BRS Pelota e BRS Firmeza diferiram com relação ao valor máximo de F_a , bem como no tempo em que elas atingiram esses valores. Na cv. BRS Pelota, o incremento nos valores de F_a foi maior e prolongado por pelo menos 5 dias em relação à cultivar BRS Firmeza. Estes resultados são, aparentemente, contraditórios aos observados para W_t e A_f (Figuras 1a,d), pois verificou-se uma inversão, ou seja, enquanto R_a decresceu após 42 DAE, A_f e W_t aumentaram neste mesmo período, resultados também observados por URCHEI et al. (2000) em cultivares de feijoeiro. Estes autores atribuíram a redução em F_a à maior eficiência das folhas em converter energia luminosa e CO_2 em matéria seca.

Observou-se, também, um aumento na razão de peso foliar (F_w) aos 42 DAE (V_7 - V_8) para a cultivar BRS Firmeza e aos 50 DAE (V_9 - V_{10}), aproximadamente, para

BRS Pelota (Figura 2c). Aumentos em F_w refletem maior alocação de assimilados para as folhas em desenvolvimento, tidas como dreno metabólico preferencial (ZEPKA, 2007). A partir desses períodos, os valores de F_w reduziram-se com a ontogenia das plantas, igualando-se ao final do período de florescimento com o início do enchimento dos grãos (100 DAE, aproximadamente, quando as plantas encontravam-se no estágio de crescimento R₅-R₆). Tal redução observada ao longo do desenvolvimento das plantas foi consistente com os resultados descritos por LUGG e SINCLAIR (1980), BACARIN et al. (1997), BRAGA (1998) e ZEPKA (2007). O decréscimo em F_w ao longo do desenvolvimento das plantas reflete a mobilização de compostos fotoassimilados para outros órgãos da planta (LUGG e SINCLAIR, 1980).

Em relação à área foliar específica (S_a) (Figura 2d), pôde-se observar que o comportamento das cultivares foi muito semelhante ao longo do desenvolvimento das plantas, apresentando maiores valores de S_a no início do ciclo da cultura. Os valores de S_a foram decrescendo com o desenvolvimento das plantas de ambas as cultivares, de maneira similar ao decréscimo em S_a observado por SILVA et al. (2005) em plantas de cana-de-açúcar. De acordo com estes autores, reduções em S_a estão relacionadas à translocação de reservas das folhas para outras partes da planta, principalmente nos colmos, comportamento esse observado também por NETTO et al. (2000), na cultura de batata com diferentes lâminas de irrigação. De acordo com RADFORD (1967), S_a representa as diferenças no espessamento foliar, ou seja, permite verificar se as plantas estão acumulando fotoassimilados em suas folhas ou translocando-os para outros órgãos.

Avaliou-se também a distribuição de matéria seca entre os diferentes órgãos da planta, como mostra a Figura 3. A matéria seca total acumulada foi igual a 7,87 e 6,87 g planta⁻¹ aos 60 DAE (quando as plantas encontravam-se em crescimento vegetativo),

32,32 e 29,61 g planta⁻¹ no início da formação das panículas e 61,29 e 38,29 g planta⁻¹ na maturidade em BRS Pelota e BRS Firmeza, respectivamente. O aumento relativo no acúmulo de matéria seca durante o estágio de amadurecimento foi 48% em BRS Pelota e 23% em BRS Firmeza (Figura 3), mostrando que a cultivar BRS Pelota é muito mais eficiente no que se refere à produção e acúmulo de biomassa.

Houve também diferença entre as cultivares estudadas em relação ao padrão de distribuição de matéria seca em cada órgão durante o período de enchimento de grãos. A figura 3 mostra um aumento considerável no peso da matéria seca do colmo + bainha em BRS Pelota em detrimento à sua redução em BRS Firmeza. Por conseguinte, a matéria seca acumulada nas folhas reduziu-se em ambas as cultivares refletindo o crescimento negativo característico de plantas em estágio de maturação (MILTHORPE e MOORBY, 1974) e a distribuição de matéria seca para as panículas foi maior na cultivar BRS Pelota, de maior produtividade (Figura 3).

Embora as cultivares apresentem diferença na produtividade, elas mostraram, em termos de porcentagem de matéria seca destinada às panículas ao final do ciclo reprodutivo, valores muito semelhantes (29 e 30% para BRS Pelota e BRS Firmeza, respectivamente). Sabe-se que panículas e órgãos vegetativos como colmos, folhas e raízes constituem importantes drenos de fotoassimilados em arroz (KATO et al., 2004). Em BRS Pelota, os colmos e as bainhas foram os maiores órgãos dreno para os fotoassimilados no decorrer do período de amadurecimento. Este resultado é sustentado por meio do aumento no acúmulo de matéria seca observado nestes órgãos ao final da última coleta (estádio R₈) (Figura 3a). Resultados semelhantes foram observados por KATO et al. (2004), estudando diferenças na distribuição de matéria-seca em plantas de arroz fêmea estéril. Estes autores verificaram que o surgimento de perfilhos tardios assumia o papel de novos órgãos dreno durante o estágio final de desenvolvimento das

plantas. Geralmente o surgimento de perfilhos tardios, originados de gemas laterais, está relacionado a uma elevada taxa de fotossíntese na fase final de enchimento dos grãos, mas a sua influência na distribuição de matéria seca ainda não foi estudada (TAKAHASHI, 1992).

Por conseguinte, o aumento no peso da matéria seca das raízes em ambas as cultivares aos 125 DAE (R_8) permite supor que novas raízes se desenvolveram ao longo do amadurecimento das plantas, como descrito por KATO et al. (2004). Estas raízes atuariam como órgãos drenos de fotoassimilados. É necessário salientar que, comparativamente à cv. BRS Pelota, o aumento da matéria seca nas raízes de BRS Firmeza mostrou-se mais evidente (Figura 3b). A atividade prolongada do sistema radicular nesta cultivar pode influenciar o direcionamento de fotoassimilados para os grãos e contribuir para o atraso na senescência das plantas, processos diretamente relacionados a possíveis aumentos na síntese de citocininas. Não obstante, a cultivar BRS Firmeza apresenta o fenótipo *stay green*, o que resulta em inibição dos processos envolvidos na degradação das clorofilas, com subsequente atraso na senescência das plantas (RAMPINO et al., 2006). Teoricamente, a presença dos genes que conferem o fenótipo *stay green* pode resultar em diferentes impactos sobre a produtividade, resultado do prolongamento da atividade assimilatória bem como do retardo no seu declínio (RAMPINO et al., 2006). Assim, hipotetiza-se que o maior sistema radicular observado em BRS Firmeza reflita uma maior síntese de citocinina, que, após ser transportada em direção à parte aérea, influencia fortemente fenômenos fisiológicos como o desenvolvimento de cloroplastos e senescência foliar, como sugerido por DEBI et al. (2005).

Em termos de produtividade das cultivares, BRS Pelota teve um rendimento de grãos de 17,4 g vaso⁻², significativamente superior ao rendimento da cultivar BRS

Firmeza (11,8 g vaso⁻²) (Tabela 1). Desta forma, BRS Pelota produziu, em média, 31 % mais grãos que a cultivar BRS Firmeza. Além disso, o número de panículas em BRS Pelota foi aproximadamente duas vezes superior à cultivar BRS Firmeza, não havendo diferença significativa entre as cultivares com relação ao peso de 1000 grãos.

Em BRS Firmeza, a produção de grãos foi positivamente relacionada com o peso de mil grãos e negativamente relacionada com o número de panículas. Nenhuma correlação significativa entre os componentes de produção foi observada para a cultivar BRS Pelota. GERALDO et al., (2000) verificaram que a produção de grãos em diferentes cultivares de milho foi positivamente correlacionada com alguns componentes de produção, como o peso de mil grãos e o comprimento das panículas e negativamente correlacionada com o número de panículas. Estes resultados são consistentes com os obtidos para a cultivar BRS Firmeza. Assim, pode-se inferir que o componente de produção de maior expressão no rendimento das cultivares BRS Pelota e BRS Firmeza foi o número de panículas, o que comprova que a cultivar BRS Firmeza, por perfilhar menos (menos afilhos férteis) que a BRS Pelota, necessitaria de uma maior densidade de plantas m⁻².

4. CONCLUSÕES:

1. A cultivar BRS Pelota apresenta maior produção de matéria seca (W_t) com maiores valores de taxa de crescimento (C_t , R_w , C_a e R_a), maior área foliar (A_f) e maior taxa de assimilação líquida (E_a).

2. O aumento relativo no acúmulo de matéria seca durante o estágio de amadurecimento é maior na cultivar BRS Pelota.

3. A cultivar BRS Pelota mostra maior eficiência na produção e acúmulo de biomassa em órgãos da parte aérea, principalmente nos colmos + bainha e panículas.

4. O peso de 1000 grãos não difere entre as cultivares BRS Pelota e BRS Firmeza.

5. Comparativamente à cultivar BRS Firmeza, a produção de grãos em BRS Pelota é 31 % maior.

6. O componente de produção de maior expressão no rendimento das cultivares BRS Pelota e BRS Firmeza foi o número de panícula.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C. Análise de crescimento de duas cultivares de cevada após tratamentos com elicitores e fungicidas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1065-1071, 2006.

BACARIN, M.A.; LOPES, N.F.; BENINCASA, M. Crescimento de sorgo sacarino, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, cultivado em terrenos com diferentes exposições e declividades. 1. Análise de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 21, n. 3, p. 286-293, 1997.

BARREIRO, A.P.; ZUCARELI, V.; ONO, E.B.; RODRIGUES, J.D. Análise de crescimento de plantas de manjerição tratadas com reguladores vegetais. *Bragantia*, Campinas, v. 65, n. 4, p. 563-567, 2006.

BRAGA, E.J.B. **Crescimento do milho (*Zea mays* L.) inoculado com a bactéria *Beijerinckia* sp. como fonte de nitrogênio.** 1998. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. *Crop Science*, Madison, v. 40, p. 436-443, 2000.

CRUSCIOL, C.A.C.; ARF, O.; SORATTO, R.P.; RODRIGUES, R.A.F.; MACHADO, J.R. Manejo de irrigação por aspersão com base no “Kc” e adubação mineral na cultura de arroz de terras altas. *Bragantia*, Campinas, v. 62, n. 3, p.465-475, 2003.

CRUZ-AGUADO, J.A.; RODÉS, R.; ORTEGA, E.; PÉREZ, I.P.; DORADO, M. Partitioning and conversion of ¹⁴C-photoassimilates in developing grains of wheat plants grown under field conditions in Cuba. *Field Crops Research*, Oxford, v. 69, p. 191-199, 2001.

DEBI, B.R.; TAKETA, S.; ICHII, M. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 162, p.507-512, 2005.

FLOSS, E.; ALVES, L.M.M. Contribuição relativa da fotossíntese das folhas no crescimento e qualidade de grãos de aveia, safra 1993. In: REUNIÃO DA COMISSÃO SULBRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1995, Guarapuava. **Resultados experimentais...** Guarapuava: FAPA, 1995. p.261-263.

FRANÇA, M.G.C.; ROSSIELLO, R.O.P.; ZONTA, E.; ARAÚJO, A.P.; RAMOS, F.T. Desenvolvimento radicular e influxo de nitrogênio em duas cultivares de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n.10, p. 1845-1853, 1999.

GERALDO, J.; ROSSIELLO, R. O. P.; ARAÚJO, A. P.; PIMENTEL, C. Diferenças em crescimento e produção de grãos entre quatro cultivares de milho pérola. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n.7, p. 1367-1376, 2000.

KATO, M.; KOBAYASHI, K.; OGISO, E.; YOKOO, M. Photosynthesis and dry-matter production during ripening stage in a female-sterile line of rice. *Plant Production Science*, Tokyo, v. 7, n.2, p.184-188, 2004.

KVET, J.; ONDOK, J. P.; NECAS, J.; JARVIS, P. G. Methods of growth analysis. In: SESTÁK, Z.; CATSKÝ, J.; JARVIS, P. G. (Eds.). **Plant photosynthetic production: manual of methods**. The Hague: W. Junk, 1971, p. 343-391.

LUGG, D. G.; SINCLAIR, T. R. Seasonal changes in morphology and anatomy of field grown soybean leaves. *Crop Science*, Madson, v. 20, p. 191-196, 1980.

MAGALHÃES JR. A.M. de; FAGUNDES, P.R.; FRANCO, D.F. Melhoramento genético, biotecnologia e cultivares de arroz irrigado. In: MAGALHÃES JR. de, A.M.; GOMES, A. da S. **Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático**. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, p.13-33, 2003. (Embrapa Clima Temperado: Documentos, 113).

MILTHORPE, F. L.; MOORBY, J. **An introduction to crop physiology**. Cambridge, Grã-Bretanha : Cambridge University, 1974. 201p.

NETTO, A.O.A.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. Análise de crescimento na cultura da batata submetida a diferentes lâminas de irrigação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 5, p. 901-907, 2000.

NTANOS, D.A.; KOUTROUBAS, S.D. Dry matter and N accumulation and translocation for Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, Oxford, v. 74, p. 93-101, 2002.

PELUZIO, J.M.; CASALI, V.W.D.; LOPES, N.F.; MIRANDA, G.V.; SANTOS, G.R. Comportamento da fonte e do dreno em tomateiro após a poda apical acima do quarto cacho. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 23, n. 3, p. 510-514, 1999.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, E.C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais**. Campinas: IAC, 1987, 33p. (IAC. Boletim técnico, 114).

RADFORD, P.J. Growth analysis formulase – their use and abuse. *Crop Science*, Madison, v. 7, n. 3, p. 171-175, 1967.

RAMPINO, P., SPANO, G., PATALEO, S., MITA, G., NAPIER, J. A., DI FONZO, N., SHEWRY, P. R., PERROTTA, C. Molecular analysis of a durum wheat “stay green” mutant: Expression pattern of photosynthesis-related genes, *Journal of Cereal Science*, London, v. 43, p. 160-168, 2006.

RICHARDS, F.J. The quantitative analysis of growth. In: STEWARD, F. C. (Ed.). **Plant Physiology**. New York: Academic Press, 1969, p. 3-76.

RODRIGUES, J.D.; RODRIGUES, S.D.; PEDRAS, J.F.; DELACHIAVE, M.E.A.; BOARO, C.S.F.; ONO, E.O. Diferentes níveis de cálcio e o desenvolvimento de plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. Cv. “Cook”). *Science Agrícola*, Piracicaba, v. 50, n. 2, p. 166-175, 1993.

SANTOS, A.B; COSTA, J.D. Comportamento de variedades de arroz de sequeiro em diferentes populações de plantas, com e sem irrigação suplementar. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 1-8, 1995.

SILVA, D.K.T.; DAROS, E.; ZAMBOM, J.L.C.; WEBER, H.; IDO, O.T.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; KOEHLER, H.S.; OLIVEIRA, R.A. Análise de crescimento em cultivares de cana-de-açúcar em Cana-Soca no Noroeste do Paraná na safra de 2002/2003. *Scientia Agrária*, Curitiba, v. 6, n. 1-2, p. 47-53, 2005.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas, RS: SOSBAI, 2007. 164p.

TAKAHASHI, K. Analysis of developmental phase of stem in high nodal-position tillers in rice plants. Japanese Journal of Crop Science, Tokyo, v. 61, p. 49-55, 1992.

URCHEI, M. A.; RODRIGUES, J. D.; STONE, L. F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 3, p. 497-506, 2000.

WATSON, D. J. The physiological basis of variation in yield. Advances in Agronomy, New York, v. 4, p. 101-145, 1952.

ZEPKA, A. P. S. **Germinação, vigor de sementes e crescimento de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a diferentes doses de pendimethalin.** 2007. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas.

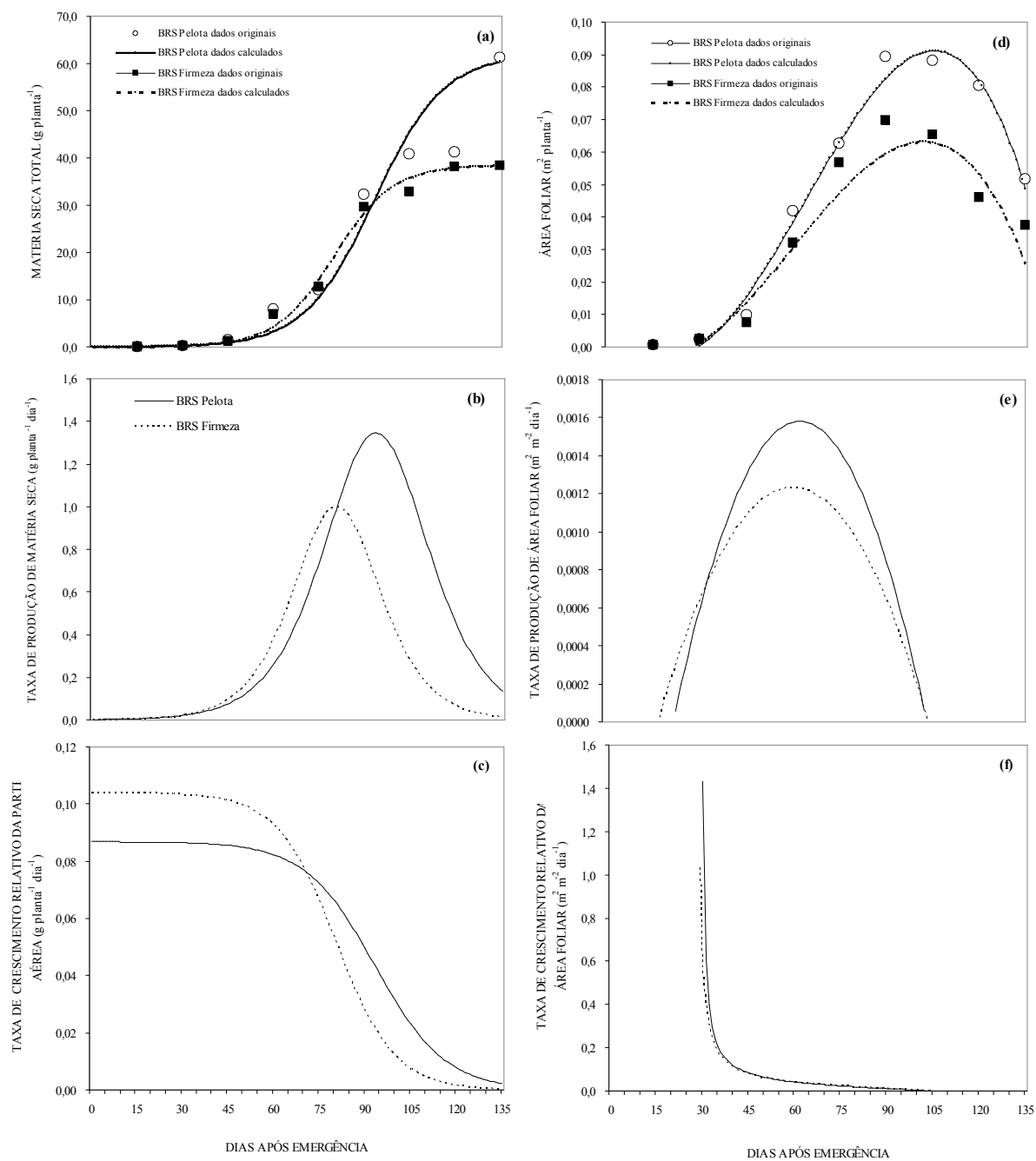


Figura 1. Matéria seca total (W_t - a), taxa de produção de matéria seca (C_t - b), taxa de crescimento da parte aérea (R_w - c), área foliar (A_f - d), taxa de produção de área foliar (C_a - e) e taxa de crescimento relativo da área foliar (R_a - f) de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Pelota (maior produtividade) e BRS Firmeza (menor produtividade).

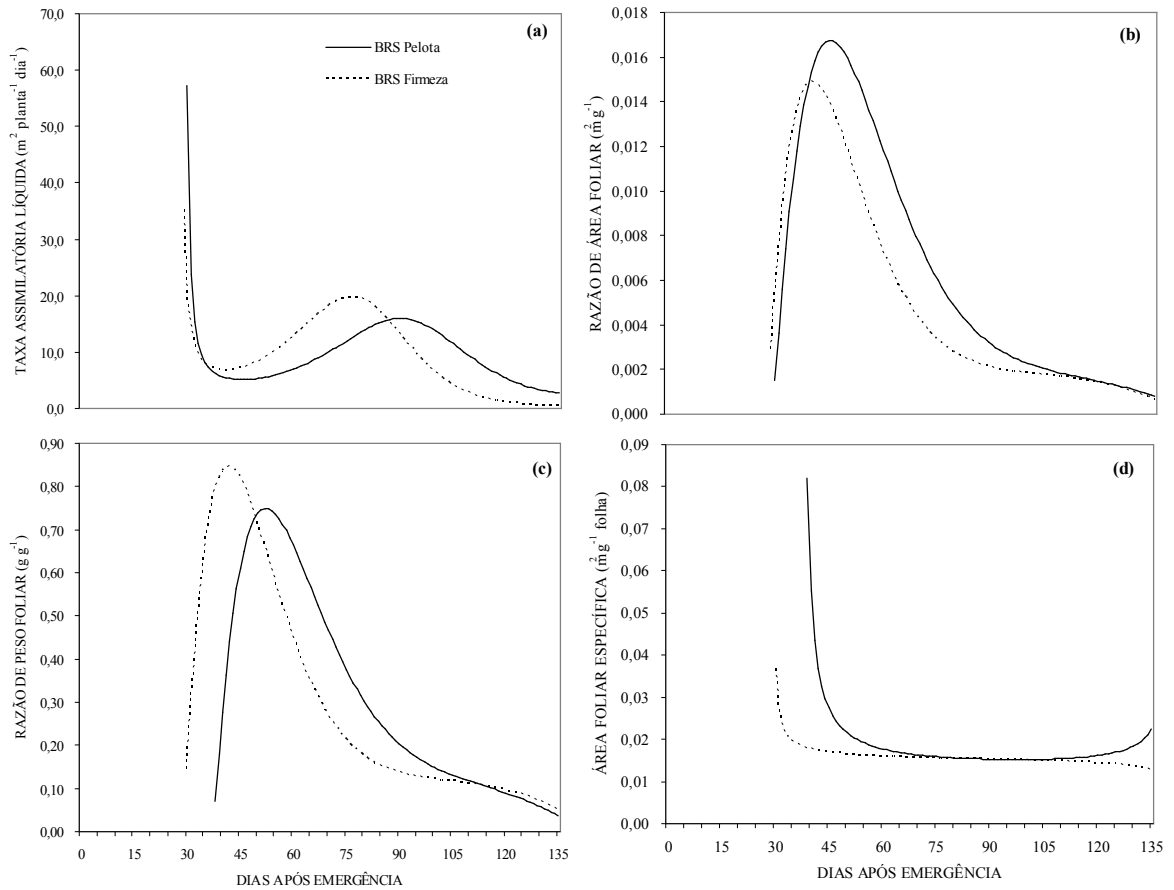


Figura 2. Taxa assimilatória líquida (E_a - a), razão de área foliar (F_a - b), razão de peso foliar (F_w - c) e área foliar específica (S_a - d) de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Pelota (maior produtividade) e BRS Firmeza (menor produtividade).

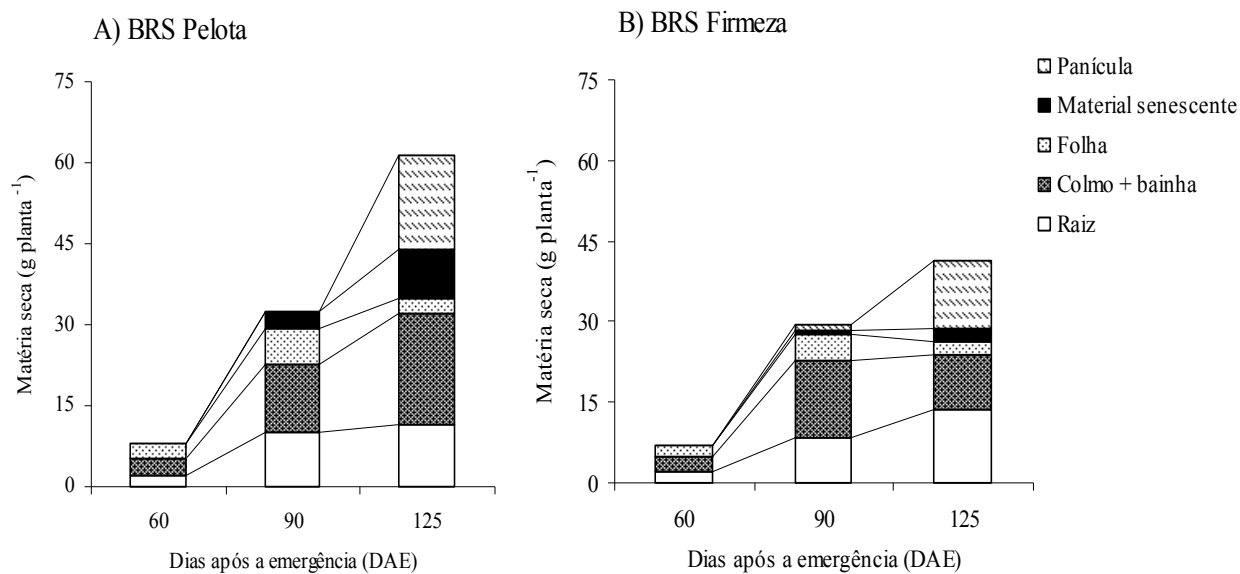


Figura 3. Distribuição de matéria seca entre órgãos de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Pelota (maior produtividade) e BRS Firmeza (menor produtividade), medida aos 60 dias após a emergência (Crescimento vegetativo), 90 dias após a emergência (período de início de enchimento de grãos) e aos 125 dias após a emergência (período correspondente ao final de enchimento dos grãos).

Tabela 1. Produção de grãos, massa de mil grãos e número de panículas de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Pelota (maior produtividade) e BRS Firmeza (menor produtividade), obtidos aos 125 dias após a emergência, período correspondente ao final de enchimento dos grãos¹.

Caráter	Cultivar		CV (%)
	BRS Pelota	BRS Firmeza	
Produção de grãos (g vaso ⁻²)	17,4 ± 2,98 a	11,8 ± 0,55 b	5,35
Massa de mil grãos (g)	26,4 ± 0,14 ^{ns}	27,0 ± 0,06 ^{ns}	4,5
Número de panículas por planta	10 ± 2,37 a	3 ± 00 b	25,41

¹Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a produção de fotoassimilados fator determinante da produtividade, o ganho fotossintético obtido por meio do melhoramento genético assume grande importância, uma vez que a fotossíntese é processo inicial para a produção de nova biomassa. Nas últimas décadas, a avaliação do ganho fotossintético em espécies cultivadas passou a ser de grande interesse para pesquisadores e para acelerar os estudos genéticos na busca de alta produtividade, tornou-se necessário o desenvolvimento de procedimentos que possibilitassem uma rápida e confiável seleção de características fotossintéticas de interesse para os melhoristas de plantas. Neste sentido, a fluorescência da clorofila pode ser considerada uma ferramenta ideal: não invasiva, rápida e informativa.

No presente estudo, variações genotípicas em parâmetros da fluorescência da clorofila foram expressivas. Com relação à eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II, expressa pela relação F_v/F_m , nenhuma diferença significativa foi observada entre os genótipos analisados. Da mesma forma, nenhuma correlação foi observada entre F_v/F_m e o ano de liberação das cultivares, indicando que F_v/F_m já atingiu seu valor máximo.

Por outro lado, os parâmetros da fluorescência efetiva da clorofila (F_v'/F_m' e Φ_{PS2}), os quais refletem a atividade dos fotossistemas em estado adaptado à luz, mostraram-se muito sensíveis na caracterização das cultivares de arroz. Quando

se relacionou F_v'/F_m' e Φ_{PS2} com o ano de liberação das cultivares, observou-se um declínio nos seus valores absolutos até 1960 e posterior recuperação até 2005. Este resultado permitiu considerar F_v'/F_m' e Φ_{PS2} bons parâmetros de seleção visando o aumento na produção de biomassa em arroz, uma vez que o aumento observado após 1960 foi consistente com a maior produtividade apresentada pelas cultivares.

Diferenças na taxa de evolução do oxigênio também foram expressivas entre os diferentes genótipos analisados, especialmente entre linhagens macho-estéreis e sua linha mantenedora da fertilidade. Nestas linhagens, a taxa de evolução do oxigênio constituiu-se um parâmetro adequado para se caracterizar os efeitos da perda da fertilidade sobre a capacidade fotossintética das plantas. Porém, analogamente aos resultados obtidos para F_v/F_m , não houve correlação entre os valores da taxa de evolução do oxigênio e o ano de liberação das cultivares.

Considerando-se a caracterização de cultivares de arroz com produtividade contrastante, F_v/F_m mostrou-se muito sensível em todos os estádios de desenvolvimento das plantas. Neste caso em específico, ela refletiu muito bem a atividade fotossintética das plantas, confirmado pelos valores da relação F_s/F_o , a qual fornece estimativas da assimilação líquida do CO_2 e da condutância estomática em plantas C_3 . Ao contrário, F_v'/F_m' , Φ_{PS2} e q^P foram distintivos apenas ao final do ciclo de desenvolvimento das plantas ou ponto de colheita.

Por conseguinte, a presença do fenótipo *stay green* na cultivar BRS Firmeza foi também caracterizada através da fluorescência da clorofila. O fenótipo *stay green* é caracterizado por um atraso na senescência da planta, e, na teoria, o fenótipo resulta em aumento da produtividade, obtida pela extensão da capacidade assimilatória, a qual contribui significativamente para a formação do grão. Entretanto, a cultivar BRS Firmeza portadora do fenótipo *stay green* apresenta menor produtividade quando comparada à cultivar BRS Pelota (ausência do fenótipo *stay green*). Isso confirma o fato de que outras características fisiológicas possam ter maior impacto sobre a produção de grãos em culturas como o arroz. Como relatado na literatura, a duração do crescimento

da cultura, o número e comprimento das panículas, acúmulo de matéria seca, índice de área foliar e estatura da plantas são fatores de elevado significado na determinação da produtividade. Neste estudo, mediante análise de crescimento e de partição de assimilados, foi verificado que o acúmulo de matéria seca, a área foliar e o número de panículas foram positivamente relacionados à maior produção de grãos na cultivar BRS Pelota. Entretanto, é preciso ressaltar que a base para a formação dessa biomassa está nas reações fotossintéticas, iniciadas pelas reações de absorção luminosas nos fotossistemas.

A necessidade de estudos que determinem a assimilação líquida do CO_2 , as trocas gasosas e condutância estomática deve ser levada em consideração, baseado no fato de que eles refletem a atividade assimilatória real da planta. Isso nem sempre é possível mediante o estudo da fluorescência da clorofila e do transporte de elétrons pelo fotossistema II, uma vez que, especialmente em plantas com metabolismo fotossintético C_3 , o fluxo de elétrons pelos fotossistemas pode ser direcionado para as reações de fotorrespiração, do metabolismo de nitrogênio ou para as reações de formação de espécies reativas de oxigênio. Em virtude destas razões, é pertinente também a determinação de outros parâmetros que neste trabalho não foram determinados como: atividade de enzimas antioxidantes, que poderia acrescentar informações valiosas sobre o mecanismo de tolerância ao estresse gerado pelas espécies reativas de oxigênio resultante das reações de transporte de elétron; atividade de enzimas do metabolismo de nitrogênio, que poderiam contribuir com informações relevantes a respeito da capacidade de assimilação do nitrogênio; e da assimilação do CO_2 , trocas gasosas e condutância estomática, como mencionado anteriormente.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)