



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO SOLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

JÔNATHAS DA SILVA MELO

**RELAÇÕES ENTRE DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO, METABOLISMO DE
AÇÚCARES E FOTOSÍNTESE EM PLANTAS DE ALGODOEIRO**

FORTALEZA – CE

2016

JÔNATHAS DASILVA MELO

**RELAÇÕES ENTRE DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO, METABOLISMO DE
AÇÚCARES E FOTOSSÍNTESE EM PLANTAS DE ALGODOEIRO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, na área de concentração em Ciência do Solo, da Universidade Federal do Ceará – UFC, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira.

Coorientador: Dr. Marcio de Oliveira Martins.

FORTALEZA – CE

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M485r Melo, Jônathas da Silva.
 Relações entre deficiência de potássio, metabolismo de açúcares e fotossíntese em plantas de algodoeiro / Jônathas da Silva Melo. – 2016.
 85 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Solos e Nutrição de Plantas), Fortaleza, 2016.
 Orientação: Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira.
 Coorientação: Prof. Dr. Marcio de Oliveira Martins.
1. *Gossypium hirsutum* L.. 2. Estresse nutricional. 3. Fotossíntese. 4. Açúcares. 5. Carboidratos. I
Título.

CDD 631.4

JÔNATHAS DASILVA MELO

**RELAÇÕES ENTRE DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO, METABOLISMO DE
AÇÚCARES E FOTOSSÍNTESE EM PLANTAS DE ALGODOEIRO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, na área de concentração em Ciência do Solo, da Universidade Federal do Ceará – UFC, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira.

Coorientador: Dr. Marcio de Oliveira Martins.

Aprovada em: 15/Julho/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Marcio de Oliveira Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Danilo de Menezes Daloso
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Evandro Nascimento da Silva
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus e meus amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo e à Universidade Federal do Ceará, que ofereceram esta oportunidade de qualificação, juntamente com infraestrutura. Agradeço aos professores das disciplinas e ao CNPq que me custeou durante o curso. Ao grupo que me atendeu, LabPlant – Laboratório de Metabolismo de Plantas, pelo privilégio único que tive de atuar em laboratório, sendo que os reagentes, equipamentos e estrutura foram, em sua maioria, custeados pelo mesmo.

Ao Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira e ao Prof. Dr. Marcio de Oliveira Martins, pelas orientações, preocupações que tivemos na idealização deste trabalho, pelo tempo disponibilizado, pela compreensão e novas oportunidades de trabalho que me foram abertas. Por felicidade, a minha inexperiência no setor e na bancada de laboratório foram compensadas com a ajuda dos meus orientadores e colegas. Agradeço também aos Professores participantes da banca revisora pelas correções e preciosas sugestões oferecidas.

Aos colegas que concluíram ou realizam a Pós-Graduação, pela oportuna ajuda recebida, especialmente ao Jones Batista Vidal, que deu os primeiros passos em trabalho com potássio em plantas de milho, à Cinthya Fontenele Vieira, que logo no início me permitiu acompanhá-la em seus trabalhos e Jordânia Maria Gabriel Pereira que também logo me inseriu em seus trabalhos. Aos meus amigos de laboratório: Girlaine Martins dos Santos, Eliezer de Araújo Guilherme, Rachel Hellen de Sousa, Adilton de Vasconcelos Fontenele, Ana Karla Moreira Lobo, Fabrício Eulálio Leite Carvalho, Yugo Lima Melo, Juliana Ribeiro da Cunha, João Victor Abreu Cerqueira, Vicente Thiago Cândido Barros Alencar, Rikaely Torres de Sousa, Milton Costa Lima Neto, Rafael Magalhães de Aragão, as alunas de iniciação científica Lorena Ferreira Dodt, Ana Caroline Xavier Silva, Lara Mesquita Pinheiro, Carmem Lícia Rios Fontenele Lima e Raysa Mayara de Jesus Sousa.

Ao Laboratório de Química e Fertilidade do Solo, que me ofereceu auxílio para as primeiras medidas de potássio. Aos colegas da turma de ingresso no mestrado (2014.2): Hermano Melo Queiroz, Francisco Ítalo Fernandes de Oliveira, Cícera Juliana Cruz da Silva, José Alessandro Guimarães Lima, Ademir Silva Menezes, Ulai Libni Carvalho de Carvalho, Edgleudo Coelho de Sousa e Denise de Castro Lima (doutoranda). Tenho amigos em outros setores, que conheço apenas pelo primeiro nome, em especial: Roberto (Prof. Chico) e Emanuel (Prof. Tadeu), do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC.

RELAÇÕES ENTRE DEFICIÊNCIA DE POTÁSSIO, METABOLISMO DE AÇÚCARES E FOTOSÍNTESE EM PLANTAS DE ALGODOEIRO

RESUMO: O potássio (K^+) é um nutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, participando de funções vitais como abertura estomática, fotossíntese e respiração. A crescente deficiência de potássio em solos agrícolas levará à sua deficiência em plantas, sendo que um dos problemas ocasionados é o acúmulo de açúcares em folhas. Diante deste contexto, foi estudado o distúrbio no metabolismo fotossintético e de açúcares na deficiência de potássio e sua recuperação em folhas de diferentes idades em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Após a germinação, as plântulas foram transplantadas para potes contendo 2,8 L da solução de Hoagland e Arnon (1950). Foram aplicados os tratamentos de controle (+K: 8,0 mM de K^+), deficiente (-K: 0,12 mM de K^+) e recuperação de K^+ . O material vegetal foi coletado após 23 dias de tratamento, quando foi observada redução da fotossíntese nas seis primeiras folhas (F1 a F6, contadas da base). Imediatamente, o tratamento de recuperação foi aplicado em plantas -K remanescentes, e consistiu na substituição da solução -K pela solução +K. Após 4 dias deste tratamento, todo o material vegetal foi coletado. As folhas mais jovens foram mais susceptíveis a alterações do crescimento, fotossíntese e metabolismo de açúcares envolvidos com potássio. Na deficiência, grande parte do potássio residual foi translocado para as folhas mais novas. Ainda que os níveis de potássio na deficiência não tivessem variado entre as folhas F1 e F5, houve diferença marcante na produção de matéria seca, área foliar, fotossíntese e metabolismo de açúcares. Assim, os níveis críticos de potássio que limitaram estes processos foram maiores em folhas jovens. Devido à elevada C_i em folhas deficientes, de F1 a F5, as limitações bioquímicas parecem ter sido a causa primária da redução fotossintética nestas folhas, conquanto que as causas estomáticas fossem a causa secundária. Em folhas jovens, a glicose foi o único açúcar aumentado que poderia estar relacionado à modulação negativa da fotossíntese na deficiência de potássio. Em folhas velhas, a redução fotossintética não foi modulada por açúcares. Nestas folhas, a privação de potássio afetou negativamente o crescimento, fotossíntese e o metabolismo de açúcares, mas estes processos puderam ser recuperados ao suprimir-se a deficiência. As folhas velhas foram menos susceptíveis a alterações destes indicadores, mas foram menos passíveis de serem recuperados. Conclui-se que os níveis similares de potássio em folhas de diferentes idades determinam diferentes respostas ao crescimento, fotossíntese e o metabolismo de açúcares, sugerindo que estes processos possam ter sido modulados indiretamente.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum* L., Estresse nutricional, Fotossíntese, Açúcares, Carboidratos.

RELATIONSHIP BETWEEN THE K⁺-DEFICIENCY, METABOLISM SUGARS AND PHOTOSYNTHESIS IN COTTON PLANTS

ABSTRACT: Potassium (K⁺) is an essential macronutrient for plant growth and development, participating in vital functions such as stomatal conductance, photosynthesis and respiration. The increasing K⁺-deficiency in agricultural soils will lead to K⁺-deficiency in plants, and one of the problems caused is the accumulation of sugars in deficient leaves. View of this context, this research, was studied the disorder in photosynthetic metabolism of sugars in potassium deficiency and its recovery in leaves of different ages in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). After germination, seedlings were transplanted into pots containing 2.8 L of Hoagland and Arnon's solution (1950). The control (+K: 8.0 mM), K⁺-deficient (-K: 0.12 mM) and K⁺-recovery treatments were applied. The plant material was sampled after 23 days of treatment, when it was observed reduction of photosynthesis in the first six leaves (F1 to F6, from the base). Immediately, the recovery treatment was applied to the remaining -K plants, and consisted in replacing the -K by +K solution. After 4 days of treatment, whole plant material was sampled. The youngest leaves were more susceptible to changes in growth, photosynthesis and sugars metabolism involved with potassium. On K⁺-deficiency, most of the K⁺ residual in oldest leaves was translocated to the younger. On K⁺-deficiency, although potassium had not varied between F1 and F5 leaves, there was a marked difference in dry matter production, leaf area, photosynthesis and sugars metabolism. Thus, the K⁺-critical levels that limited these processes were higher in young leaves. Due to the high C_i in deficient leaves, metabolic limitations appear to be the primary cause for reducing photosynthesis in F1 to F5 leaves. On the young leaves, the increased glucose was the only sugar which could be related to downregulation of photosynthesis in K⁺-deficiency. On the old leaves, reducing photosynthesis in K⁺-deficiency and recovery treatments was not related to the content of sugars. In young leaves, deprivation of potassium negatively affects growth, photosynthesis and sugars metabolism, but these processes could be recovered by removing up the deficiency. Old leaves are less susceptible to changes in these indicators, but are less susceptible to being recovered. It is concluded that similar potassium levels in leaves of different ages determine different responses to growth, photosynthesis and sugars metabolism, suggesting that these processes may have been modulated indirectly.

Keywords: K⁺-Recovery, Nutritional stress, Photosynthesis, Sugars, Carbohydrates.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização subcelular de isoenzimas invertases e vias de descarga do floema	20
Figura 2 – Atividades das principais enzimas no metabolismo de açúcares em folhas	21
Figura 3 – Matéria seca de folhas FJ, folhas F1-F6, caules e raízes (A), das folhas F1-F6 (B) e distribuição do percentual de matéria seca (C) em plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	32
Figura 4 – Aspecto visual de folhas F1-F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Recuperação)	33
Figura 5 – Aspecto visual da parte aérea de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K ⁺ (-K)	34
Figura 6 – Aspecto visual de raízes de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K ⁺ (-K)	34
Figura 7 – Área foliar de F1 a F6 (A), altura (B) e diâmetro do caule principal (C) de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K ⁺ (-K)	35
Figura 8 – Conteúdo de K ⁺ de folhas FJ, folhas F1-F6, caules e raízes (A), das folhas de F1 a F6 (B) e distribuição do percentual de K ⁺ (C) em plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	37
Figura 9 – Danos de membrana (DM) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	38
Figura 10 – Conteúdo relativo de água (CRA) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	39
Figura 11 – Parâmetros fotossintéticos de fotossíntese líquida (P _N) (A), concentração intercelular de CO ₂ (C _i) (B), condutância estomática (g _s) (C) e transpiração (E) (D) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (-K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	40

Figura 12 – Parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i> nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (–K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec), de taxa de transporte de elétrons (ETR) e rendimento quântico fotoquímico ($\Delta F/F_m'$)	41
Figura 13 – Açúcares solúveis totais nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (–K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	42
Figura 14 – Conteúdos de sacarose (A), amido (B), glicose (C) e frutose (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (–K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	44
Figura 15 – Atividades de sacarose fosfato sintase (SFS) (A), sintase da sacarose (SS) (B), invertase ácida solúvel (IAS) (C) e invertase neutra (IN) (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (–K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	46
Figura 16 – Conteúdos de clorofila a (A), clorofila b (B), carotenóides totais (C) e clorofilas totais (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K), deficiente (–K) e após período de recuperação de K ⁺ (Rec)	47
Figura 17 – Modelo sugerido para o metabolismo de açúcares: (A) em folhas deficientes em K ⁺ , comparado ao controle; (B) em recuperação de K ⁺ , em comparação à deficiência de K ⁺	54
Figura 18 – Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação	80
Figura 19 – Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação	81
Figura 20 – Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação	82
Figura 21 – Fotos de experimentos prévios ao experimento final envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio em plantas de algodoeiro cv. FM 910	83
Figura 22 – Fotos do trabalho apresentado no “XV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal”, evento realizado em Foz do Iguaçu/PR, Brasil, no período de	

28/09 a 02/10/2015, com o título: “Potassium deficiency induces CO₂ assimilation reduction through negative modulation of Rubisco in cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.)” 84

Figura 23 –Banner apresentado no “XV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal”, evento realizado em Foz do Iguaçu/PR, Brasil, no período de 28/09 a 02/10/2015, com o título: “Potassium deficiency induces CO₂ assimilation reduction through negative modulation of Rubisco in cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.)” 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Matéria seca (g) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	65
Tabela 2 – Área foliar (cm ²) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K ⁺ (-K)	66
Tabela 3 – Diâmetro do caule principal (mm) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K ⁺ (-K)	66
Tabela 4 – Altura das plantas (cm) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K ⁺ (-K)	66
Tabela 5 – Conteúdo de K ⁺ (g 100 g ⁻¹ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	67
Tabela 6 – Danos de membranas (%) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	68
Tabela 7 – Conteúdo relativo de água (%) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	69
Tabela 8 – Assimilação líquida de CO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	70
Tabela 9 – Concentração intercelular de CO ₂ (Pa) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec).	71
Tabela 10 – Condutância estomática (mol m ⁻² s ⁻¹) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	72
Tabela 11 – Transpiração (mmol m ⁻² s ⁻¹) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	73
Tabela 12 – Taxa de transporte de elétrons (ETR) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	74
Tabela 13 – Rendimento quântico do fotossistema II (ΔF/Fm') dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	75
Tabela 14 – Conteúdo de açúcares solúveis totais (μmol g ⁻¹ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	76
Tabela 15 – Conteúdo de sacarose (μmol g ⁻¹ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	76
Tabela 16 – Conteúdo de amido (μmol g ⁻¹ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K ⁺ (Rec)	76

Tabela 17 – Conteúdo de glicose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	77
Tabela 18 – Conteúdo de frutose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	77
Tabela 19 – Atividade de sacarose fosfato sintase (SFS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	77
Tabela 20 – Atividade de sacarose sintase (SS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	78
Tabela 21 – Atividade de invertase ácida solúvel (IAS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	78
Tabela 22 – Atividade de invertase neutra (IN) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	78
Tabela 23 – Conteúdos de clorofila a (mg g^{-1} MS), clorofila b (mg g^{-1} MS), carotenóides totais (mg g^{-1} MS) e clorofilas totais (mg g^{-1} MS) em folhas F1 e F5 dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec)	79

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

K^+	Potássio na forma iônica
P_N	Fotossíntese líquida
g_s	Condutância estomática
ATP	Trifosfato de adenosina
ROS	Espécies reativas de oxigênio
K_m	Constante de Michaelis-Menten
C_i	Concentração intercelular de CO_2
C_c	Concentração cloroplástica de CO_2
g_s	Condutância estomática
g_m	Condutância do mesofilo
E	Transpiração
Pi	Fosfato inorgânico
SFS	Sacarose fosfato sintase
SS	Sacarose sintase
IAS	Invertase ácida solúvel
IN	Invertase neutra
IPC	Invertase de parede celular
HK	Hexoquinase
Rubisco	Ribulose 1,5-bifosfato carboxilase oxigenase
PPFD	Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos
IRGA	Analisador de gás infravermelho
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo do fotossistema II
ETR	Taxa de transporte de elétrons do fotossistema II
CRA	Conteúdo relativo de água
DM	Danos de membranas
FJ	Grupo de folhas mais jovens

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Importância do potássio e seu papel na fotossíntese	17
1.2	O papel do potássio no metabolismo de açúcares em plantas	18
2	HIPÓTESE E OBJETIVOS	23
2.1	Hipótese	23
2.2	Objetivo geral	23
2.3	Objetivos específicos	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	Material vegetal e condições de crescimento	24
3.2	Estratégia experimental	24
3.3	Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	25
3.4	Conteúdo relativo de água e danos de membranas	25
3.5	Determinação do conteúdo de potássio	26
3.6	Determinações do conteúdo de açúcares	26
3.7	Determinações de atividades enzimáticas	28
3.8	Determinações do conteúdo de clorofilas e carotenóides	29
3.9	Determinações de parâmetros de crescimento	30
3.10	Análises estatísticas	30
4	RESULTADOS	31
4.1	Parâmetros de crescimento	31
4.2	Indicadores de estresse	38
4.3	Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	39
4.4	Metabolismo de açúcares	42
4.5	Conteúdo de clorofilas e carotenóides	46
5	DISCUSSÃO	48
5.1	Considerações finais	55
6	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57
	APÊNDICE A – DADOS TABELADOS	65
	APÊNDICE B – FOTOS DO EXPERIMENTO	80

1 INTRODUÇÃO

1.1 Importância do potássio e seu papel na fotossíntese

O potássio constitui aproximadamente 2.1-2.3% da crosta terrestre, sendo o sétimo ou oitavo elemento mais abundante do planeta (ZÖRB; SENBAYRAM; PEITER, 2014). Apesar de sua abundância, suas reservas não estão completamente disponíveis em áreas agrícolas no mundo, estando insuficientes para o desenvolvimento da agricultura (HAFSI; DEBEZ; ABDELLY, 2014). O íon potássio (K^+) é o cátion mais abundante em plantas, sendo participante de processos vitais, como abertura estomática, fotossíntese, regulação osmótica, balanço eletroquímico, transporte de solutos no xilema e floema, cofator para atividades enzimáticas, síntese de proteínas e sinalização de estresses (WAKEEL, 2013; SHABALA e POTTOSIN, 2014). Este íon pode alcançar até 10% do peso seco total das plantas (COSKUN *et al.*, 2013) e, devido a isto, torna-se essencial em quantidades relativamente altas (EREL *et al.*, 2015).

A deficiência de potássio está normalmente associada com o decréscimo das taxas de transpiração via regulação estomática nas fases avançadas de deficiência nutricional (RÖMHELD e KIRKBY, 2010). A abertura estomática decorre do aumento da turgidez das células guarda, como resultado do aumento da concentração deste íon no seu interior (BARKER e PILBEAM, 2015). Muitos dos movimentos de células e tecidos em plantas superiores estão associados com o turgor celular, envolvido com a absorção e saída de potássio (AHMAD e MAATHUIS, 2014). É amplamente aceito que este íon favorece a hidratação celular, sendo o principal soluto osmótico em plantas (WYN JONES; BRADY; SPEIRS, 1979).

Vários relatos indicam que as taxas fotossintéticas de plantas superiores se alteram consideravelmente em diferentes concentrações de potássio (ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; BASILE *et al.*, 2003; WENG *et al.*, 2007; GERARDEAUX *et al.*, 2009). A sua deficiência levaria a modular negativamente a expressão do conteúdo e atividade de Rubisco (ZHENG, 2000; ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; JIN *et al.*, 2011; WANG, *et al.*, 2012b), a transpiração (E) e as condutâncias estomática (g_s) e do mesófilo (g_m) (PEOPLES e KOCH, 1979; ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; JIN *et al.*, 2011). No entanto, ao mesmo tempo, ocorre elevada concentração de CO_2 intercelular (C_i) e cloroplástica (C_c) (ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; JIN *et al.*, 2011; WANG, *et al.*, 2012b). Deste modo, os processos bioquímicos parecem ser a causa primária que ocasionam a redução

da assimilação de CO₂ (JIN *et al.*, 2011), mas os seus mecanismos subjacentes ainda não foram totalmente revelados.

Uma provável hipótese para a redução da expressão do conteúdo e atividade de Rubisco na deficiência de potássio é a diminuição do metabolismo e síntese de proteínas, um mecanismo que pode estar envolvido com o acúmulo de açúcares (SHABALA e POTTOSIN, 2014; BARKER e PILBEAM, 2015). O metabolismo do nitrogênio requer até 55% do carbono líquido suprido diretamente do transporte de elétrons fotossintéticos e fixação do CO₂. Na deficiência de potássio, com a queda do metabolismo de nitrogênio sobriariam mais esqueletos de carbono para a produção de açúcares, resultando no acúmulo destes, o que poderia levar a um *feedback* sobre a assimilação de CO₂ (WANG *et al.*, 2012b; PAUL e PELLNY, 2003). Nestas condições, as plantas poderiam mobilizar nitrogênio diretamente da Rubisco (NELSON e COX, 2014). Assim, o decréscimo do conteúdo de nitrogênio na planta com alta disponibilidade de açúcares está relacionado com a diminuição do conteúdo de Rubisco (PAUL e DRISCOLL, 1997; ARAYA; NOGUCHI; TERASHIMA, 2006).

Nestas relações, o potássio poderia contribuir para a manutenção do pH levemente alcalino dos cloroplastos, ao atuar como contra íon para o bombeamento de H⁺, por meio de ATPase, na produção de ATP (MARSCHNER, 2012; BARKER e PILBEAM, 2015). Avaliando folhas deficientes em potássio, Zhao, Oosterhuis e Bednarz (2001) e Battie-Laclau *et al.* (2014) levantaram a hipótese de que a redução do conteúdo de clorofilas poderia estar envolvido com a limitação da fixação de CO₂. No entanto, poucos estudos têm aprofundado os mecanismos subjacentes relacionados com a redução do conteúdo de clorofilas e fotossíntese na deficiência de potássio.

1.2 O papel do potássio no metabolismo de açúcares em plantas

O potássio atua como cofator na ativação de mais de 50 enzimas, incluindo várias da via glicolítica (BHANDAL e MALIK, 1988), interferindo na via metabólica de açúcares. O potássio pode aumentar o preenchimento e translocação de açúcares no floema (WHITE e KARLEY, 2010; ABROL *et al.*, 2012; DE SCHEPPER *et al.*, 2013), sendo a sacarose o principal açúcar utilizado nesta via (SMEEKENS e HELLMANN, 2014). Como consequência, a deficiência de potássio poderia levar ao acúmulo de açúcares em folhas (ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; CAKMAK, 2005; DEGL'INNOCENTI *et al.*, 2009; GERARDEAUX *et al.*, 2010; KANAI *et al.*, 2011; VIDAL, 2015). Nestas condições de deficiência, a

limitação do transporte de açúcares poderia reduzir o crescimento das folhas e órgãos drenos (GERARDEAUX *et al.*, 2010).

Foi sugerido que, na deficiência de potássio, o acúmulo de açúcares poderia modular negativamente a assimilação de CO₂ (HUBER, 1984; VIDAL, 2015). Porém, estas relações não foram suficientemente provadas. McCormick, Cramer e Watt (2008) demonstraram que todos os genes associados às reações fotossintéticas foram modulados negativamente pelo acúmulo de açúcares. A modulação negativa da fotossíntese, por *feedback* de açúcares, poderia ocorrer via genes envolvidos, por exemplo, no complexo coletor de luz, em vários processos nos tilacóides e fixação do CO₂ (KRAPP; QUICK; STITT, 1991; KILB; WIETOSKA; GODDE, 1996). Foi relatado que as folhas de algodoeiro acumularam açúcares solúveis na deficiência de potássio, e reduziram a taxa de exportação de fotoassimilados antes que houvesse redução da assimilação de CO₂ (ASHLEY e GOODSON, 1972; MENGEL, 1980), sugerindo que açúcares poderiam gerar uma modulação negativa sobre os processos relacionados à fotossíntese.

A deficiência de potássio poderia estar envolvida com alterações nas relações entre fonte e dreno (AHMAD e MAATHUIS, 2014). O acúmulo de açúcares pode ser tipicamente observado com a redução da exportação de carbono ou do requerimento de drenos (ADAMS *et al.*, 2013). O processo de repressão fotossintética em folhas foi demonstrado, por exemplo, em resposta a remoção de frutos e outros drenos (DEMMIG-ADAMS; STEWART; ADAMS, 2014), ou se suprindo sacarose exógena em folhas de cana de açúcar (LOBO *et al.*, 2015).

A sacarose é um açúcar não redutor, usualmente transportada para todos os órgãos não fotossintetizantes da planta, podendo ser conduzida via simplasto, apoplasto ou pelo floema (WARD *et al.*, 1997) (Fig. 1). Os seus produtos de clivagem, glicose e frutose, atuam em várias vias metabólicas e sinalização (SMEEKENS e HELLMANN, 2014). A sacarose pode ser hidrolisada por diferentes isoenzimas invertases, conforme a via de descarga do floema para os tecidos drenos. As enzimas SFS (sacarose fosfato sintase), SS (sacarose sintase), IAS (invertase ácida solúvel) e IN (invertase neutra) são as principais enzimas que controlam o acúmulo e clivagem da sacarose (KULSHRESTHA *et al.*, 2013; SMEEKENS e HELLMANN, 2014; HU *et al.*, 2015).

tem sido utilizado em muitos estudos sobre potássio em plantas, tendo também sido relatado o acúmulo de açúcares em suas folhas na deficiência mineral (ZHAO; OOSTERHUIS; BEDNARZ, 2001; WANG *et al.*, 2012a; PETTIGREW, 1999; ASHLEY e GOODSON, 1972).

2 HIPÓTESE E OBJETIVOS

2.1 Hipótese

A redução da assimilação de CO₂ em folhas jovens deficientes em potássio ocorre em resposta à modulação estomática e ao *feedback* negativo causado pelo acúmulo de açúcares nestas folhas.

2.2 Objetivo geral

Estabelecer relações entre a deficiência de potássio, assimilação de CO₂ e o metabolismo de açúcares em plantas de algodoeiro, avaliando as respostas em folhas de diferentes idades e após um período de recuperação.

2.3 Objetivos específicos

- Caracterizar o estresse e o dano causado pela deficiência de potássio nas folhas de algodoeiro cv. FM 910, avaliando fenotipicamente as plantas, danos de membranas celulares, valores de ETR e $\Delta F/F_m'$;
- Avaliar as limitações impostas à fotossíntese de folhas de algodoeiro cv. FM 910 deficientes em potássio por meio de parâmetros de trocas gasosas;
- Determinar diferenças entre os níveis críticos de várias folhas nos quais a deficiência de potássio limita a fotossíntese, crescimento e metabolismo de açúcares em algodoeiro cv. FM 910;
- Avaliar o estado hídrico de plantas de algodão cv. FM 910 deficientes em potássio por meio da mensuração do conteúdo relativo de água;
- Verificar o efeito da deficiência de potássio no metabolismo de açúcares por meio de ensaios para mensuração do conteúdo de açúcares solúveis totais, sacarose, amido, glicose e frutose, além das atividades enzimáticas de SFS, SS, IAS e IN;
- Estabelecer relações entre o efeito diferencial no metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades na deficiência e recuperação de potássio;
- Observar evidências de relações fonte-dreno no transporte de açúcares e potássio, entre folhas de diferentes idades.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições de crescimento

Foram utilizadas sementes de algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.) convencionais fornecidas pela empresa Bayer Cropscience[®] (cv. Fiber Max 910). As sementes foram embebidas por 1 hora em água deionizada e, em seguida, germinadas em solo esterilizado, arenoso e inerte. Após sete dias, as plântulas foram transplantadas para potes aerados contendo 2,8 L da solução de Hoagland e Arnon (1950), sendo cultivadas em casa de vegetação durante 14 dias, em condições naturais: temperatura do ar entre 27 °C (mínimo) e 37 °C (máximo); umidade relativa do ar média em torno de 65%; máximo PPFD de 820 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 12 h de fotoperíodo. Em seguida, as plantas foram acondicionadas em câmara de crescimento controlado do ambiente: temperatura do ar entre 26 °C (mínimo) e 32 °C (máximo); umidade relativa do ar média em torno de 65%; máximo PPFD de 550 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 12 h de fotoperíodo.

3.2 Estratégia experimental

As plantas foram crescidas em casa de vegetação, em tratamentos consistindo de solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K^+ (-K). A solução +K conteve os sais nutrientes: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 3,0 mM; NH_4Cl 2 mM; K_2HPO_4 1,0 mM; MgSO_4 1,0 mM; KNO_3 6 mM; Fe-Na-EDTA 50 μM ; H_3BO_3 20 μM ; MnCl_2 4,5 μM ; CuSO_4 1,5 μM ; ZnSO_4 3,5 μM ; NaMoO_4 50 pM. A solução -K teve os respectivos sais K_2HPO_4 e KNO_3 substituídos por Na_2HPO_4 e NaNO_3 , com adição de KCl 0,12 mM. Estas soluções foram substituídas semanalmente e aplicadas gradualmente nas diluições de 1:3, 1:1 e completa, porém sendo mantido 0,12 mM de KCl desde o transplântio em -K. Após 14 dias do transplântio, as plantas foram transferidas para uma câmara em condições de crescimento controlado, para dar estabilidade às medidas de parâmetros de trocas gasosas. O material vegetal foi coletado após nove dias em câmara de crescimento, quando foi observada redução da fotossíntese nas seis primeiras folhas (F1 a F6, contadas da base). No dia desta coleta, foram feitas medidas de área foliar, diâmetro do caule e altura das plantas. Imediatamente, o tratamento de recuperação foi aplicado em plantas -K remanescentes, e consistiu na substituição da solução -K pela solução +K. No 4º dia deste tratamento, todo o material vegetal foi coletado. No dia de realização das coletas, foram feitas medidas de parâmetros de trocas gasosas (P_N , C_i , g_s e E) e de fluorescência da clorofila *a* (Δ -

F/Fm' e ETR) nas folhas de F1 a F6, utilizando um analisador de gás no infravermelho (IRGA LI-6400XT), acoplado a um fluorômetro de clorofila (LI-6400-40, LI-COR, Lincoln, NE, USA). Foram coletados discos foliares, de F1 a F6, para avaliação do conteúdo relativo de água e danos de membranas. As folhas de F1 a F6 foram liofilizadas e armazenadas em dessecador para análises posteriores, enquanto as demais folhas e órgãos foram secos em estufa. Foram feitas medidas de conteúdo de K⁺ e matéria seca (MS) em todo o material vegetal. As folhas F1 e F5 foram escolhidas, segundo o comportamento diferencial fotossintético entre os tratamentos, para as análises dos conteúdos de açúcares totais, glicose, frutose, sacarose e amido, atividades de invertase solúvel ácida (IAS) e neutra (IN), sacarose fosfato sintase (SFS) e sacarose sintase (SS), sendo esta última na via de síntese de sacarose. Nestas folhas, F1 e F5, também foram mensurados os conteúdos de clorofilas a e b, carotenóides e clorofilas totais. Todos os dados de resultados e as fotos envolvidas com o experimento foram postos nos Apêndices A e B, respectivamente.

3.3 Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Para as medidas de trocas gasosas, nas folhas F1 a F6, foi utilizado um analisador de gás no infravermelho – IRGA, modelo LI-6400XT (Li-Cor, Lincoln, NE, USA). Fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) foram obtidos, fixando a temperatura da câmara em 28 °C, umidade 65% e PPFD de 1200 μmol fótons m⁻² s⁻¹. O valor de PPFD foi escolhido como luz saturante a partir de curva de resposta de luz, em experimento-teste já realizado. O fluxo de luz azul foi ajustado para 10% do PPFD para maximizar a abertura estomática (FLEXAS *et al.*, 2007).

O rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica no estado de equilíbrio dinâmico da fotossíntese foi calculado como: $\Delta F/Fm' = (Fm' - Fs)/Fm'$, onde Fs e Fm' são, respectivamente, a fluorescência da fotossíntese no equilíbrio dinâmico e a fluorescência máxima na luz. A taxa aparente de transporte de elétrons no fotossistema II foi calculada como: $ETR = (\Delta F/Fm' \times PPFD \times 0,5 \times 0,85)$. Para ETR, 0,5 foi usado como fração da energia de excitação distribuída para o PSII e 0,85 como fração de luz absorvida pelas folhas (GENTY; BRIANTAIS; BAKER, 1989; SCHREIBER, 2004; SILVA *et al.*, 2010).

3.4 Conteúdo relativo de água e danos de membranas

Para avaliar o conteúdo relativo de água (CRA), dez discos de mesma área (2 cm²), obtidos a partir das folhas de F1 a F6, com três repetições, foram coletados e pesados para obtenção da massa fresca (MF). Em seguida, estes discos foram imersos em 5 mL de água deionizada por 24 h, em temperatura ambiente e no escuro. Após este tempo, foram novamente pesados para obtenção da massa túrgida (MT). Logo após, estes discos foram levados à estufa, a 65 °C, com circulação forçada de ar por três dias, e pesados para obtenção da matéria seca (MS). O CRA foi obtido a partir da equação: $CRA = [(MF-MS)/(MT-MS)] \times 100$ (BARRS, 1968; BOYER, 1968). Os resultados foram expressos em %.

Os danos de membranas (DM) foram estimados a partir do vazamento de eletrólitos utilizando dez discos obtidos das mesmas folhas utilizadas para a medida do CRA. Esses discos foram imersos em 5 mL de água deionizada por 24 h. Em seguida, a condutividade elétrica dessa suspensão foi medida (C1). Logo após, o material foi levado a banho-maria a 99 °C durante 1 h e, após terem atingido temperatura ambiente, foi feita nova medição de condutividade elétrica (C2). Para obtenção do DM, as medidas foram inseridas na fórmula $DM = (C1/C2) \times 100$ (BLUM e EBERCON, 1981). Os resultados foram expressos em %.

3.5 Determinação do conteúdo de potássio

Para a determinação do conteúdo de potássio, 50 mg de amostras das partes secas da planta, sendo três repetições, foram adicionadas a 5 mL de água deionizada e levadas ao banho-maria a 99 °C por 1 hora. O material foi centrifugado a 3000 rpm por 3 minutos, e o sobrenadante foi coletado. A concentração de potássio nos tecidos foi determinada por fotometria de chama (Micronal[®], São Paulo, Brasil) e expressa em g 100 g⁻¹ de matéria seca (% MS) (EWING, 1972).

3.6 Determinações do conteúdo de açúcares

Açúcares solúveis totais foram determinados conforme DuBois *et al.* (1956), sendo a curva padronizada com 0 a 0,4 μmol glicose mL⁻¹. Para a extração de açúcares, 50 mg de amostras das folhas F1 e F5 liofilizadas, sendo três repetições, foram adicionadas a 5 mL de solução MCW, formada por metanol, clorofórmio e água (12:5:3) (v/v), em tubos de ensaio rosqueáveis, e foram levados ao banho-maria a 90 °C por 1 hora. Após a extração, as amostras

foram centrifugadas a 3.000 rpm por 3 minutos, e o sobrenadante foi coletado. Este processo foi repetido duas vezes e os sobrenadantes (fase metanólica que contém açúcares) foram reunidos, sendo volume final completado com MCW para 10 mL em proveta graduada, seguido de agitação. Foram adicionados 500 μ L deste extrato (com diluição de 17x) em tubos de ensaio, e foram adicionados 500 μ L de fenol 5%, seguidos de agitação em vortex. Foram adicionados 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado, de modo rápido e diretamente contra a superfície da solução. Após repouso por 10 minutos, os tubos foram agitados e deixados em repouso por 15 minutos em temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, as leituras foram feitas em espectrofotômetro a 490 nm. Os resultados foram expressos em μ mol g⁻¹ de matéria seca.

O conteúdo de sacarose foi determinado de acordo com Van Handel (1968), sendo a curva padronizada com 0 a 6 μ mol sacarose mL⁻¹. Para extração de sacarose, 50 mg das folhas F1 e F5 liofilizadas, sendo três repetições, foram adicionadas em 1,5 mL de solução MCW, formada por metanol, clorofórmio e água (12:5:3) (v/v), a 25 °C por uma hora e, em seguida, centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos. Este processo foi repetido duas vezes e os sobrenadantes (fase metanólica que contém sacarose) foram reunidos. Os tubos com a fração aquosa metanólica foram levados ao banho-maria para serem aquecidos a 35 °C por 30 minutos para evaporação do clorofórmio residual, e o volume final foi completado com MCW para 3 mL em proveta graduada, seguido de agitação. Foram adicionados 100 μ L da fase aquosa (sem diluição) em 100 μ L de KOH 30%, seguido de agitação. Em seguida, a mistura foi levada ao banho-maria a 100 °C por 10 minutos. Após resfriamento, foram adicionados 3 mL de solução de antrona (0,2% em H₂SO₄ concentrado, mantido em baixa temperatura com gelo). A mistura foi agitada e levada ao banho-maria a 40 °C por 20 minutos. Após resfriamento, as amostras foram agitadas vigorosamente por 10 segundos, e em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 620 nm. Os resultados foram expressos em μ mol g⁻¹ de matéria seca.

O conteúdo de amido foi determinado de acordo com McCready *et al.* (1950), sendo a curva padronizada com 0 a 0,4 μ mol glicose mL⁻¹. Para a extração de amido, 50 mg de amostras das folhas F1 e F5 liofilizadas, sendo três repetições, foram adicionadas a 5 mL de solução MCW, formada por metanol, clorofórmio e água (12:5:3) (v/v), em tubos de ensaio rosqueáveis, e foram levados ao banho-maria a 90 °C por 1 hora. Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 3 minutos, e os sobrenadantes foram descartados, mantendo a fase de clorofórmio (que contém amido). Nova extração foi realizada com adição de 5 mL de HClO₄ 30% a 25 °C por 30 minutos. As amostras foram, então, centrifugadas a 3.000 rpm por 3 minutos, sendo o volume final completado com MCW para 10 mL em proveta gra-

duada, seguido de agitação. O conteúdo de amido foi, então, determinado de acordo com Dubois *et al.* (1956), conforme metodologia descrita para açúcares solúveis totais, sendo utilizada a diluição de 34x. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria seca.

Os conteúdos de frutose e glicose foram determinados por meio de métodos enzimáticos acoplados à formação de NADH monitorado a 340 nm, sendo três repetições, utilizando *Kits* específicos de ensaio (Sigma-Aldrich[®]). Todos os ensaios de quantificação de açúcares tiveram resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria seca.

3.7 Determinações de atividades enzimáticas

Para a extração de proteínas, as folhas F1 e F5 liofilizadas, sendo três repetições, foram maceradas no meio de extração, composto por 100 mM de tampão fosfato de K^+ em pH 7,0, contendo 5 mM de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), 5 mM de ácido ascórbico, 5 mM de DTT (ditiotreitól), 1 mM de PMSF (Fluoreto fenil metano sulfonil), 1% de PVP (polivinilpirrolidona), 0,2% de PVPP (polivinilpolipirrolidona) e 3% de PEG (polietilenoglicol), sendo removido O_2 do meio por infusão de N_2 por 1 minuto. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 14.000 g por 30 minutos, e o sobrenadante foi coletado e usado nas atividades enzimáticas (IAS, IN, SS e SFS). Todos os estágios de extração foram realizados em baixa temperatura (4 °C). A quantidade de proteína no extrato foi determinada pelo método de Bradford (1976).

As atividades de IAS e IN foram realizadas de acordo com Zhu, Komor e Moore (1997). Para a atividade de IAS, 50 μL do extrato enzimático das amostras foi incubado a 37 °C durante 30 minutos, com 50 μL de tampão acetato de sódio 1 M em pH 4,5, e 100 μL de sacarose 120 mM (iniciador da reação), sendo a reação paralisada com 30 μL de tris 2,5 M e a 100 °C por 3 minutos. Para a atividade de IN, 50 μL do extrato enzimático das amostras foi incubado a 37 °C durante 30 minutos, com 50 μL de tampão fosfato de sódio 100 mM em pH 7,5, e 100 μL de sacarose 120 mM (iniciador da reação), sendo a reação paralisada a 100 °C por 3 minutos. Em ambas as atividades, a concentração de glicose formada foi mensurada por *Kits* de teste de glicose (Sigma-Aldrich[®]). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1} .

Para as atividades de SS e SFS, as amostras foram incubadas de acordo com Hubbard, Huber e Pharr (1989). Para a atividade de SS, 50 μL do extrato enzimático das amostras foi incubado a 37 °C durante 0 e 60 minutos (o tempo zero foi feito depois do tempo 60'),

com 50 μL do meio de reação: Hepes 50 mM em pH 7,5, MgCl_2 15 mM, frutose 25 mM e UDP-glicose 25 mM. Para as amostras do tempo zero, o branco da amostra foi feito sem UDP-glicose. A reação foi paralisada a 100 $^\circ\text{C}$ por 3 minutos. A concentração de sacarose produzida foi mensurada pelo método de Van Handel (1968), como o uso de antrona. O branco para zerar o espectrofotômetro foi formado por: 50 μL do meio de extração com 50 μL do meio de reação. O cálculo da atividade de SS foi obtido por: $\Delta = T60' - (T0' - \text{Branco da amostra } T0')$. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{ Proteína h}^{-1}$.

Para a atividade de SFS, 50 μL do extrato enzimático das amostras foi incubado a 37 $^\circ\text{C}$ durante 0 e 60 minutos (o tempo zero foi feito depois do tempo 60'), com 50 μL do meio de reação: Hepes 100 mM em pH 7,5, MgCl_2 5 mM, frutose-6-fosfato 4 mM, glicose-6-fosfato 20 mM, UDP-glicose 3 mM e EDTA 1 mM. Para as amostras do tempo zero, o branco da amostra foi feito sem UDP-glicose. A reação foi paralisada a 100 $^\circ\text{C}$ por 3 minutos. A concentração de sacarose produzida foi mensurada pelo método de Van Handel (1968), como o uso de antrona. O branco para zerar o espectrofotômetro foi formado por: 50 μL do meio de extração com 50 μL do meio de reação. O cálculo da atividade de SS foi obtido por: $\Delta = T60' - (T0' - \text{Branco da amostra } T0')$. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{ Proteína h}^{-1}$.

3.8 Determinações do conteúdo de clorofilas e carotenóides

Para a determinação do conteúdo de clorofilas, 50 mg de amostras das folhas F1 e F5 liofilizadas, sendo três repetições, foram adicionadas a 5 mL de acetona 80% gelada em tubos de ensaio protegidos da luz. Os mesmos ficaram armazenados em geladeira (4 $^\circ\text{C}$) durante 24 horas. Em seguida, o material foi centrifugado a 3000 rpm por 3 minutos, e o sobrenadante foi coletado. Os teores de pigmentos foram medidos em espectrofotômetros, nos comprimentos de onda de 663 nm, 645 nm e 470 nm para o cálculo de clorofilas e carotenóides, conforme Lichtenthaler (1987), utilizando as seguintes equações, dadas em $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em $\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$.

$$\text{Clorofila } a = 12,23 * A_{663} - 2,79 * A_{645}$$

$$\text{Clorofila } b = 21,50 * A_{645} - 5,10 * A_{663}$$

$$\text{Clorofila total} = 7,15 * A_{663} + 18,71 * A_{645}$$

$$\text{Carotenóides totais} = \frac{(1000 * A_{470} - 1,82 * \text{Clorofila } a - 85,02 * \text{Clorofila } b)}{198}$$

3.9 Determinações de parâmetros do crescimento

A matéria seca das folhas individuais de F1 a F6, sendo três repetições, foi obtida pelo processo de liofilização e, em seguida, as mesmas foram armazenadas em dessecador para análises posteriores. Os demais órgãos das plantas, sendo três repetições, foram secos em estufa de fluxo de ar contínuo por sete dias, e armazenadas em dessecador para análises de conteúdo de K⁺ e matéria seca. Foi utilizada uma régua linear para realizar as medições do comprimento das folhas do algodoeiro, sendo seis repetições, medindo-se a parte do limbo principal para determinação da área foliar (AF), a partir da Equação 1, proposta por Grimes e Carter (1969) e adaptada por Fideles Filho, Beltrão e Pereira (2010), e os resultados foram expressos em cm². O diâmetro do caule principal foi medido com paquímetro analógico na posição logo abaixo das folhas cotiledonares, sendo nove repetições, e os resultados foram expressos em mm. A altura das plantas foi medida com régua linear, sendo nove repetições, e os resultados foram expressos em cm.

$$Y = 0,7254 X^{2,08922} \quad (1)$$

Em que

Y – área foliar;

X – comprimento da nervura principal da folha.

3.9 Análises estatísticas

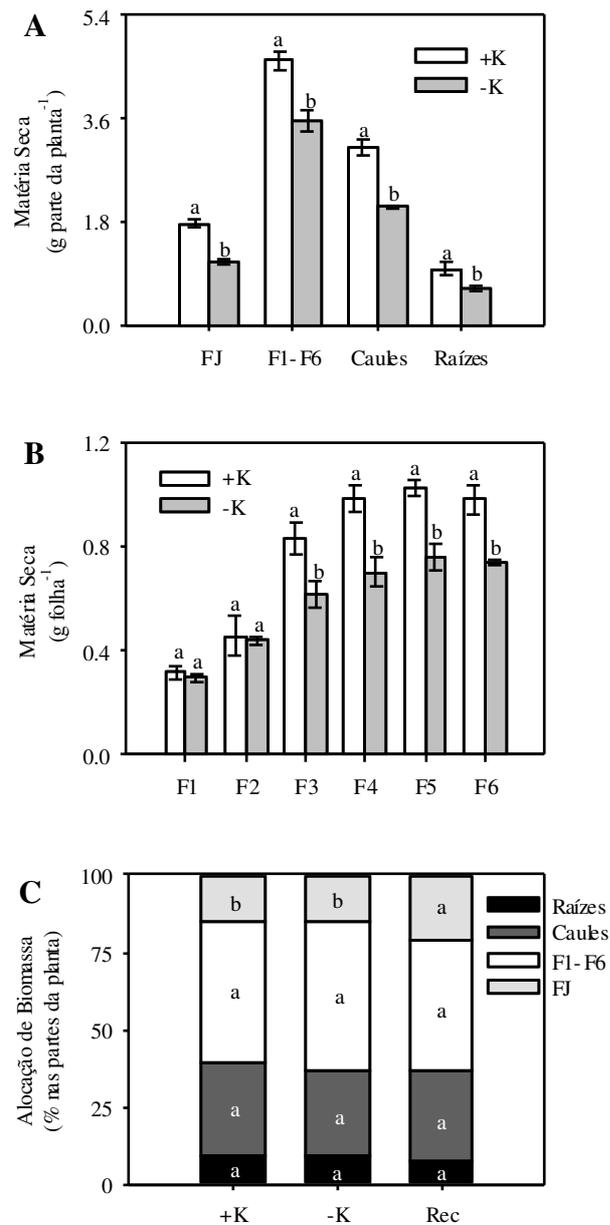
Os dados comparados dois a dois foram submetidos ao teste t de Student, a 5% (P<0,05) de significância, incluindo os parâmetros de crescimento: matéria seca, área foliar, altura e diâmetro do caule principal das plantas. Diferenças em múltiplas médias foram avaliadas pela ANOVA (análise de variância) nas análises de distribuição percentual de matéria seca, conteúdo de açúcares, trocas gasosas e atividades enzimáticas, sendo os valores médios comparados pelo teste de Tukey a 5% (P<0,05) de significância. Os dados foram tabulados e calculados em planilhas do *Software* Microsoft[®] Excel 2007 (APÊNDICE A), sendo os gráficos desenhados em *Software* SigmaPlot[®] 12.0. As comparações de médias foram obtidas utilizando o *Software* SISVAR 5.6. O tipo de delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições, no total de 27 plantas, no qual cada repetição consistiu da união de três plantas.

4 RESULTADOS

4.1 Parâmetros de crescimento

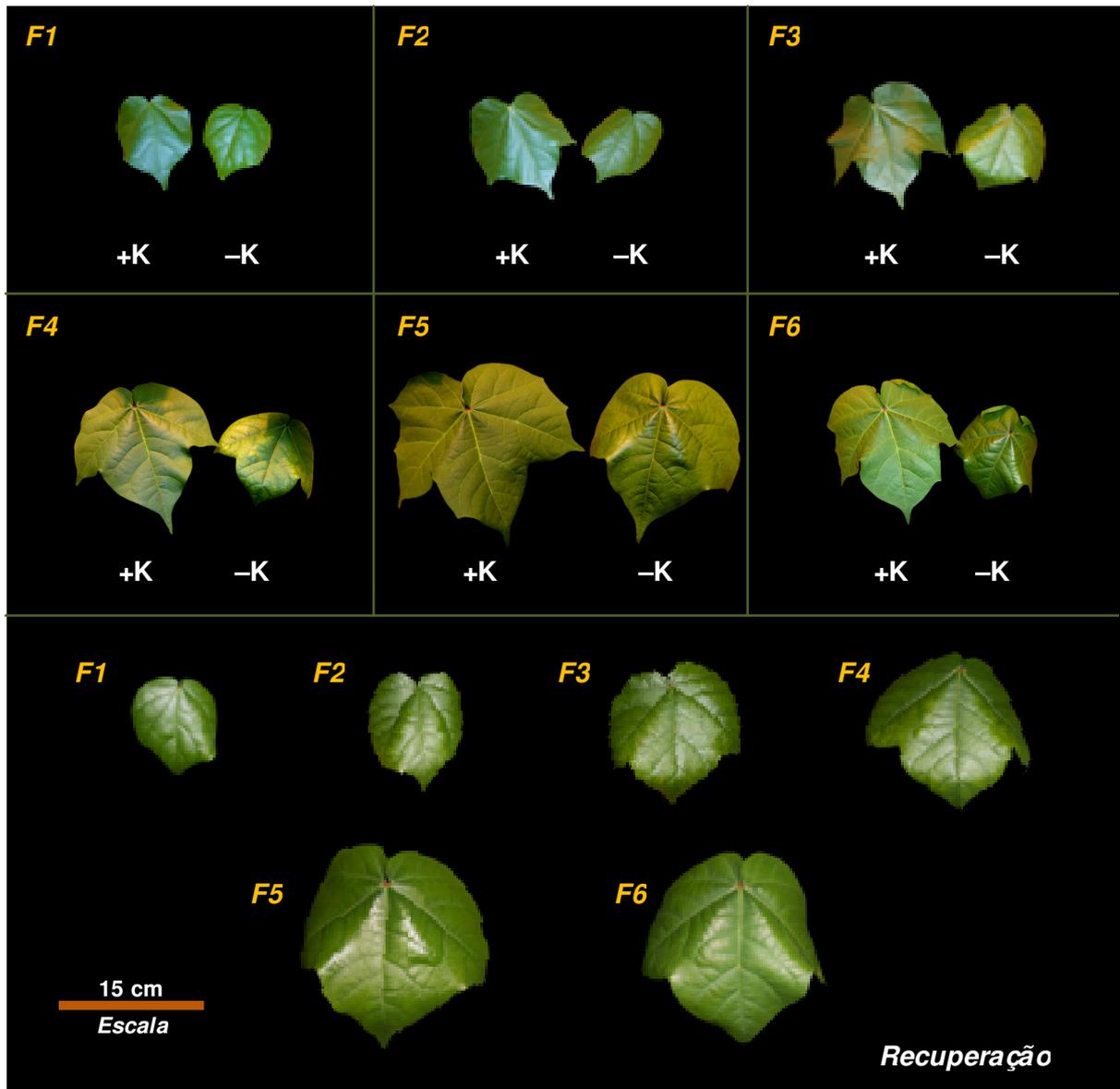
Na deficiência de K^+ , a produção de matéria seca foi menor em folhas jovens de F3 a F6. Houve tendência de redução no grupo de folhas FJ (38,5%), comparado às demais partes da planta (Fig. 3A). Na deficiência de K^+ , a distribuição percentual de matéria seca foi mantida nas partes da planta, comparado ao controle (Fig. 3C). No tratamento de recuperação de K^+ , por sua vez, houve crescimento preferencial das folhas FJ, comparado às mesmas folhas dos tratamentos controle e deficiente em K^+ (Fig. 3C).

Figura 3 Matéria seca de folhas FJ, folhas F1-F6, caules e raízes (A), das folhas F1-F6 (B) e distribuição do percentual de matéria seca (C) em plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Folhas FJ consistiram da união de todas as folhas mais jovens, exceto F1-F6. Diferentes letras representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste t ($P < 0,05$) em A e B, e pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) em C. Os valores são médias (\pm D.P.) de três repetições.



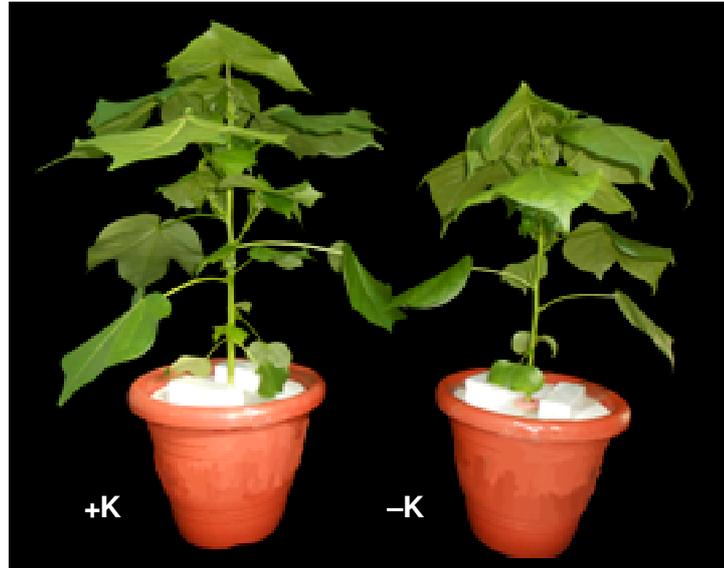
Foram identificados sintomas visuais leves de deficiência de K^+ , de clorose inicial, nas folhas de algodoeiro, conforme visto na Figura 4.

Figura 4 Aspecto visual de folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Recuperação).



A Figura 5 mostra o aspecto visual da parte aérea dos tratamentos de controle e deficiência em K^+ .

Figura 5 Aspecto visual da parte aérea de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K^+ (-K), após 23 dias de tratamento.



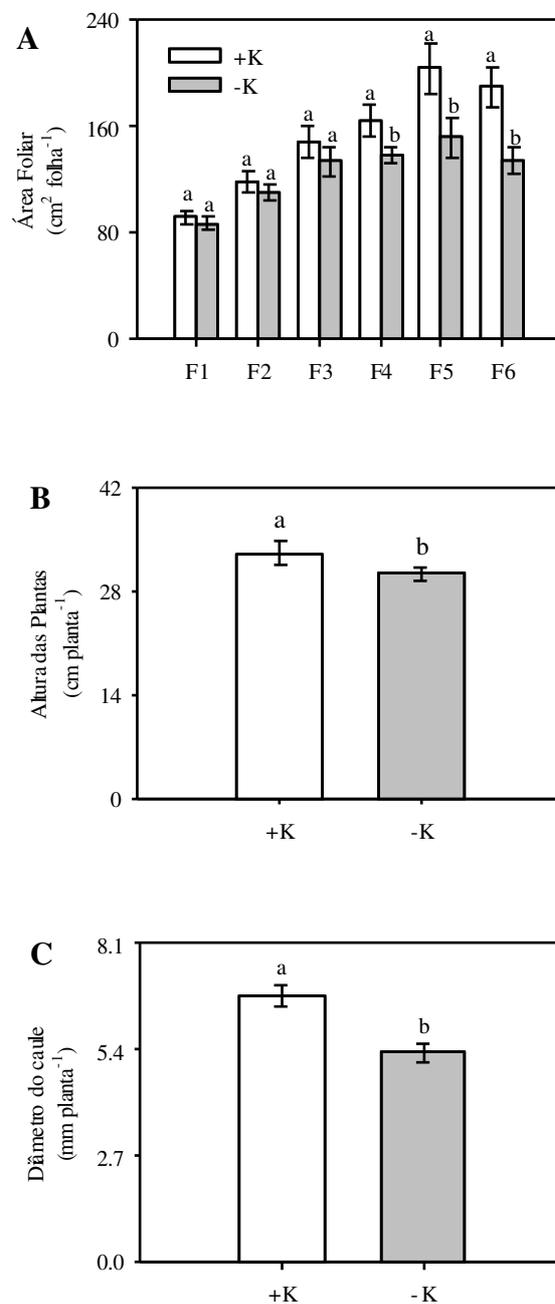
A Figura 6 mostra o aspecto visual das raízes dos tratamentos de controle e deficiência em K^+ .

Figura 6 Aspecto visual de raízes de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K^+ (-K), após 23 dias de tratamento.



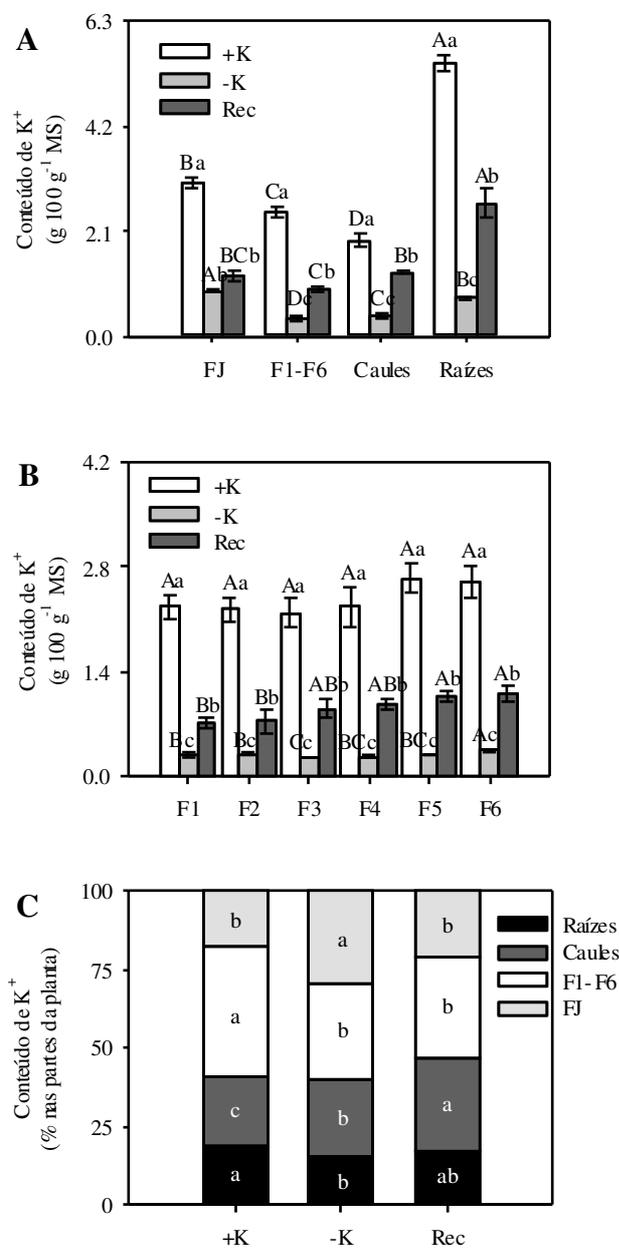
A área foliar de folhas jovens de F4 a F6, na deficiência de K^+ , tiveram reduções crescentes de 15,7, 25,4 e 29,4%, respectivamente, comparadas ao controle (Fig. 7A). A altura das plantas (Fig. 7B) e o diâmetro do caule principal (Fig. 7C) foram menores na privação de K^+ , comparados ao controle.

Figura 7 Área foliar de F1 a F6 (A), altura (B) e diâmetro do caule principal (C) de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente em K^+ (-K) após 23 dias de tratamento. Diferentes letras representam diferença significativa entre tratamentos pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.



Nos tratamentos de deficiência e recuperação, o conteúdo de K^+ foi mais direcionado para as folhas mais jovens da planta. Os conteúdos foliares de K^+ foram menores na deficiência, sendo parcialmente restaurados no tratamento de recuperação (Fig. 8A e B). No tratamento deficiente, a distribuição percentual de K^+ aumentou nas folhas FJ (Fig. 8C), e foi explicado pelo maior conteúdo de K^+ encontrado neste grupo de folhas (Fig. 8A), comparado às demais partes da planta (Fig. 8C). Esta tendência foi evidenciada pelo maior nível de K^+ em F6 (0,34% MS) comparado às folhas de F1 a F5 em deficiência (Fig. 8B). No tratamento de recuperação, foram obtidos níveis de K^+ crescentes de F1 a F6, que variaram de 0,72% MS em F1 a 1,10% MS em F6 (Fig. 8B). No período de deficiência e recuperação, as plantas realocaram o K^+ priorizando o caule (Fig. 8C), devido a menor perda de K^+ nestes órgãos no tratamento deficiente (Fig. 8A e C) e o maior direcionamento para o mesmo no tratamento de recuperação (Fig. 8A).

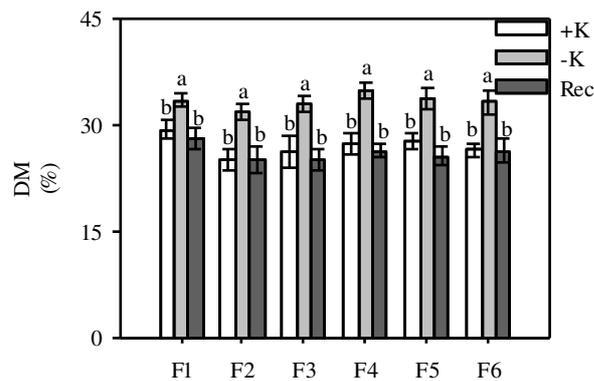
Figura 8 Conteúdo de K^+ de folhas FJ, folhas F1-F6, caules e raízes (A), das folhas de F1 a F6 (B) e distribuição do percentual de K^+ (C) em plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). O conteúdo de K^+ do grupo F1-F6 (A) foi obtido por média ponderada. Diferentes letras minúsculas na mesma folha (B) ou órgãos (A) representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e maiúsculas entre folhas (B) ou órgãos (A) diferentes representam diferenças significativas no mesmo tratamento pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.



4.2 Indicadores de estresse

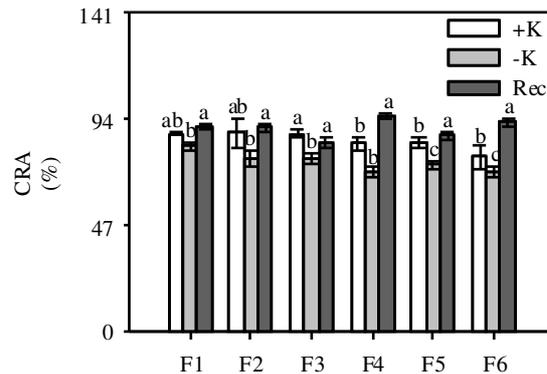
As folhas deficientes em K^+ tiveram aumento do percentual de danos de membrana (DM) nas folhas de F1 a F6, comparadas ao controle (Fig. 9). Em recuperação de K^+ , estas folhas mostraram recuperação com redução do percentual de DM, comparadas às folhas deficientes (Fig. 9).

Figura 9 Danos de membrana (DM) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras em folhas de mesma posição representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.



Nas folhas deficientes em K^+ , houve menor CRA nas folhas de F1 a F6, comparado às respectivas folhas bem supridas de K^+ (Fig. 10). Nas folhas em recuperação de K^+ , os valores foram restaurados, e foram significativamente maiores nas folhas F4 a F6, comparados ao controle (Fig. 10).

Figura 10 Conteúdo relativo de água (CRA) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras em folhas de mesma posição representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.

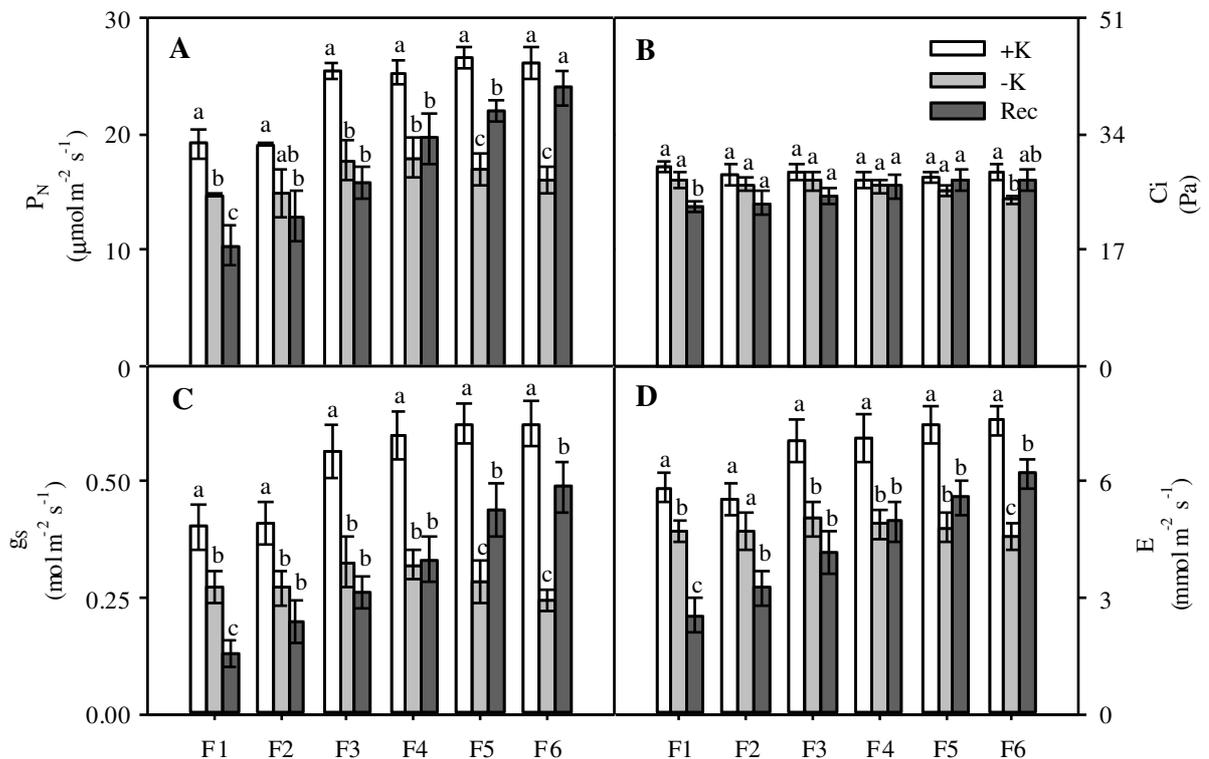


4.3 Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

As folhas deficientes em K^+ apresentaram, em geral, menores valores de assimilação líquida de CO_2 , comparadas ao controle (Fig. 11A). Esta diferença foi significativa e crescente de F1 a F6, com reduções que variaram de 23,2% em F1 a 38,2% em F6. Na recuperação das folhas F1, continuou havendo redução significativa da assimilação de CO_2 (Fig. 11A). Porém, nas folhas F5 estes valores foram parcialmente restaurados, chegando ao nível do controle nas folhas F6 (Fig. 11A). Nas folhas deficientes em K^+ , os valores de C_i não diferiram significativamente do controle, com exceção da folha F6, em que os valores foram menores (Fig. 11B). No tratamento de recuperação de K^+ , apenas as folhas F1 apresentaram menores valores significativos de C_i , comparadas ao controle. No parâmetro de condutância estomática, os resultados são similares aos obtidos em assimilação líquida de CO_2 . As folhas deficientes em K^+ apresentaram menores valores de condutância estomática, comparadas ao controle (Fig. 11C). Esta diferença foi significativa e crescente de F1 a F6, com reduções que variaram de 32,5% em F1 a 61,0% em F6. No tratamento de recuperação, as folhas alcançaram valores de condutância crescentes de F1 a F6, que variaram de 32,0% em F1 a 77,4% em F6. Nas folhas F1, com a aplicação de K^+ no tratamento de recuperação, continuou havendo redução significativa da condutância estomática (Fig. 11C). Em contraposição, estes valores foram recuperados parcialmente nas folhas F5, e nas folhas F6 estes valores foram restaurados (Fig.

11A). As folhas deficientes em K^+ também apresentaram menores valores de transpiração (Fig. 11D), comparadas ao controle. Esta diferença foi significativa e crescente de F1 a F6, em percentuais que variaram de 18,9% em F1 a 39,8% em F6. No tratamento de recuperação, as folhas F1 a F6 alcançaram valores de transpiração crescentes de F1 a F6, que variaram de 43,4% em F1 a 81,7% em F6, relativos ao controle. Nas folhas F1 e F2, com o suprimento de K^+ no tratamento de recuperação, continuou havendo redução significativa da transpiração (Fig. 11D). Porém, nas folhas F6 estes valores foram parcialmente restaurados (Fig. 11D).

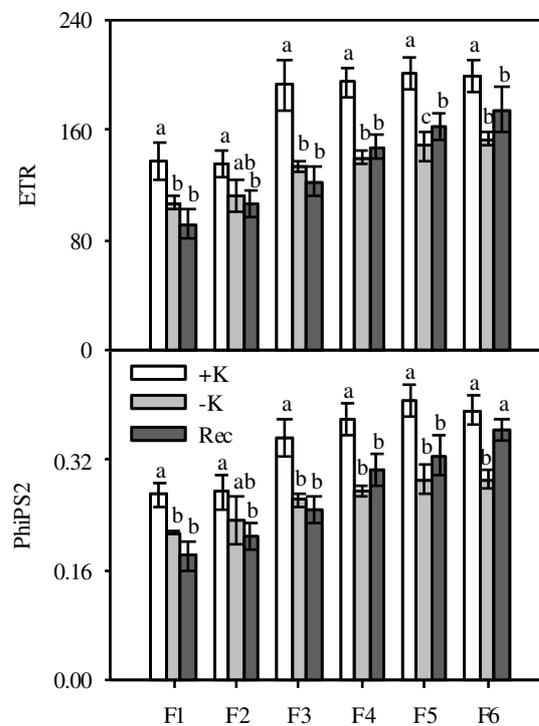
Figura 11 Parâmetros fotossintéticos de fotossíntese líquida (P_N) (A), concentração intercelular de CO_2 (C_i) (B), condutância estomática (g_s) (C) e transpiração (E) (D) nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras em folhas de mesma posição representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.



Quanto aos parâmetros de fluorescência da clorofila a no claro, os resultados obtidos entre ETR e $\Delta F/F_m'$ foram muito semelhantes (Fig. 12A e B). Em folhas deficientes em K^+ , os valores de ETR em geral foram menores, comparadas ao controle (Fig. 12A). No tra-

tamento de recuperação, as folhas F1 a F6 alcançaram valores de ETR crescentes de F1 a F6, que variaram de 66,9% em F1 a 87,3% em F6, relativos ao controle. Apenas nas folhas F5, com o suprimento de K^+ no tratamento de recuperação, estes valores foram parcialmente restaurados (Fig. 12A). Em folhas deficientes em K^+ , os valores de $\Delta F/F_m'$ em geral foram menores, comparadas ao controle (Fig. 12B). Esta diferença foi significativa e crescente de F1 a F6, em percentuais que variaram de 20,7% em F1 a 25,5% em F6. No tratamento de recuperação, as folhas alcançaram valores de $\Delta F/F_m'$ crescentes de F1 a F6, que variaram de 66,8% em F1 a 93,2% em F6, relativos ao controle. Apenas nas folhas F6, com o suprimento de K^+ no tratamento de recuperação, estes valores foram restaurados ao nível do controle (Fig. 12B).

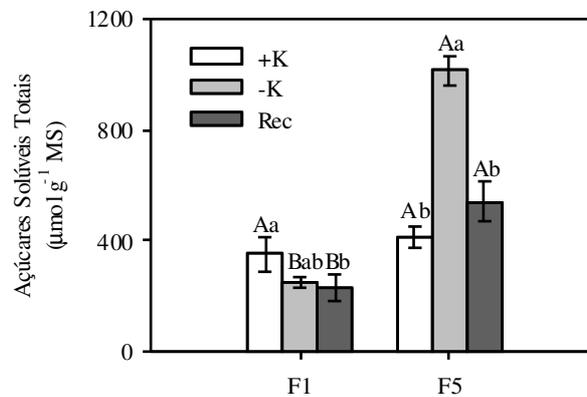
Figura 12 Parâmetros de fluorescência da clorofila *a* nas folhas de F1 a F6 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec), de taxa de transporte de elétrons (ETR) e rendimento quântico fotoquímico ($\Delta F/F_m'$). Diferentes letras em folhas de mesma posição representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores são médias ($\pm D.P.$) de três repetições.



4.4 Metabolismo de açúcares

Não houve diferença significativa do conteúdo de açúcares solúveis totais entre as folhas F1 e F5 bem supridas de K^+ (Fig. 13). Na deficiência de K^+ , a folha F1 manteve igualdade estatística do conteúdo de açúcares totais, enquanto houve um aumento significativo de 146,9% na folha F5, comparado ao controle da folha de mesma posição. No tratamento de recuperação das folhas F1, ocorreu uma redução de 34,0% de açúcares, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 13), mas não diferiram das folhas deficientes em K^+ . No tratamento de recuperação das folhas F5, estes valores foram reduzidos e restaurados ao nível das folhas controle de mesma posição (Fig. 13).

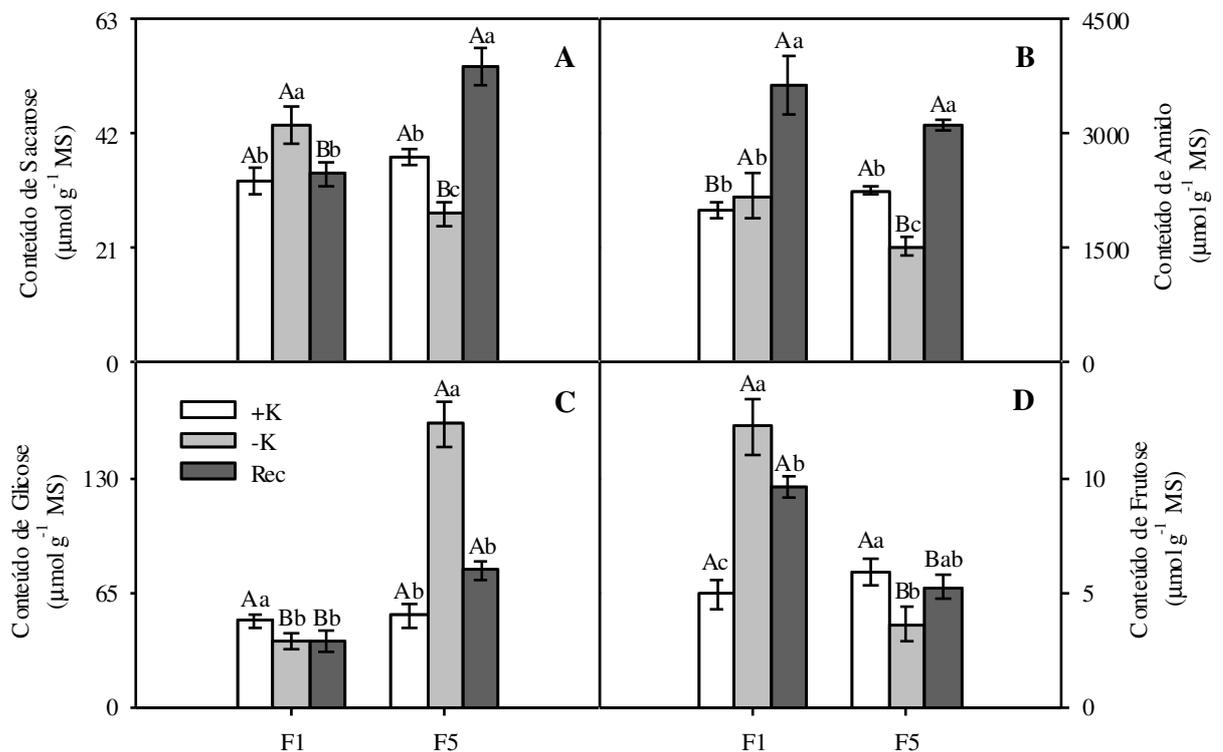
Figura 13 Açúcares solúveis totais nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras minúsculas na mesma folha representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e maiúsculas entre folhas diferentes representam diferenças significativas no mesmo tratamento pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias (\pm D.P.) de três repetições.



Não houve diferença significativa do conteúdo de sacarose entre as folhas F1 e F5 bem supridas de K^+ (Fig. 14A). Nas folhas F1 deficientes em K^+ , ocorreu um aumento significativo de 31,0% de sacarose, enquanto foi verificada uma redução de 27,6% nas folhas F5 deficientes, comparadas às folhas controle de mesma posição. Nas folhas F1 em tratamento de recuperação de K^+ , os valores de sacarose foram reduzidos e restaurados ao nível das folhas controle (Fig. 14A), enquanto que nas folhas F5, estes valores foram restaurados e aumentados, sendo 43,9% maiores, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig.

14A). Quando bem supridas de K^+ , as folhas F5 apresentaram 12,9% maior conteúdo de amido do que as folhas F1 (Fig. 14B). Na deficiência de K^+ , a folha F1 manteve igualdade estatística de amido, enquanto houve uma redução significativa de 32,5% na folha F5, comparada às folhas controle de mesma posição (Fig. 14B). No tratamento de recuperação das folhas F1, ocorreu um aumento de 82,5% de amido, enquanto que nas folhas F5 estes valores foram recuperados e restaurados, sendo 38,8% maiores, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 14B). Não houve diferença significativa de amido entre as folhas F1 e F5 tratadas com recuperação de K^+ (Fig. 14B). Não foi observada diferença significativa do conteúdo de glicose entre as folhas F1 e F5 bem supridas de K^+ (Fig. 14C). Nas folhas F1 deficientes em K^+ , ocorreu uma redução de 24,5% de glicose, enquanto que nas folhas F5 houve um grande aumento de 209,3%, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 14C). No tratamento de recuperação das folhas F1, não foi observada diferença significativa com as folhas deficientes de mesma posição, porém ocorreu uma redução de 24,3% de glicose comparada às folhas controle de mesma posição (Fig. 14C). No tratamento de recuperação das folhas F5, estes valores foram reduzidos e restaurados ao nível das folhas controle de mesma posição (Fig. 14C). Não houve diferença significativa do conteúdo de frutose entre as folhas F1 e F5 bem supridas de K^+ (Fig. 14D). Nas folhas F1 deficientes em K^+ , ocorreu um aumento significativo de 148,0% de frutose, enquanto foi verificada uma redução de 38,2% nas folhas F5 deficientes, comparadas às folhas controle de mesma posição. Nas folhas F1 em tratamento de recuperação de K^+ , os valores de frutose foram restaurados parcialmente ao nível de 94,0% acima das folhas controle (Fig. 14D), enquanto que nas folhas F5, estes valores foram aumentados e restaurados, porém não diferiram do tratamento deficiente, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 14D).

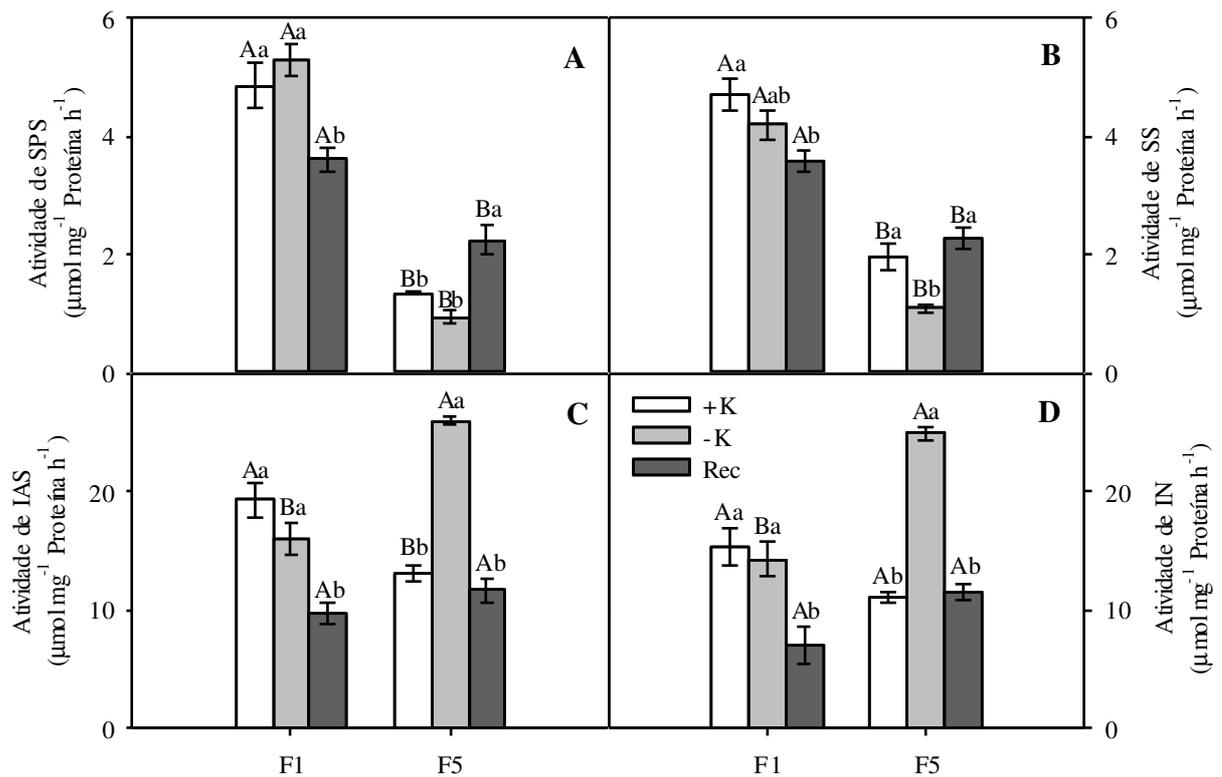
Figura 14 Conteúdos de sacarose (A), amido (B), glicose (C) e frutose (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras minúsculas na mesma folha representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e maiúsculas entre folhas diferentes representam diferenças significativas no mesmo tratamento pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias (\pm D.P.) de três repetições.



Quando bem supridas de K^+ , as folhas F1 apresentaram 261,4% maior atividade de SFS do que as folhas F5 (Fig. 15A). Na deficiência de K^+ , as folhas F1 e F5 mantiveram igualdade estatística de atividade de SFS, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 15A). No tratamento de recuperação das folhas F1, ocorreu uma redução de 25,6% de atividade de SFS, enquanto que nas folhas F5 houve um aumento de 67,6%, em relação às folhas controle de mesma posição (Fig. 15A). Na atividade de SS, as folhas F1 apresentaram 139,4% maior atividade do que as folhas F5 (Fig. 15B), quando bem supridas de K^+ . Na deficiência de K^+ , as folhas F1 mantiveram igualdade estatística de atividade de SS, enquanto que nas folhas F5 ocorreu uma redução de 44,2%, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 15B). Nas folhas F1 em tratamento de recuperação de K^+ ,

houve uma redução de atividade de SS em 23,9%, enquanto que nas folhas F5, estes valores foram aumentados e restaurados, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 15B). Quando bem supridas de K^+ , as folhas F1 apresentaram 31,8% maior atividade de IAS do que as folhas F5 (Fig. 15C). Na deficiência de K^+ , a folha F1 manteve igualdade estatística de atividade de IAS, enquanto que nas folhas F5 houve um aumento de 97,2%, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 15C). Nas folhas F1 em tratamento de recuperação ocorreu uma redução de atividade de IAS em 49,6%, enquanto que nas folhas F5, estes valores foram reduzidos e restaurados, em comparação ao nível das folhas controle de mesma posição (Fig. 15C). Não houve diferença significativa da atividade de IN entre as folhas F1 e F5 bem supridas de K^+ (Fig. 15D). Na deficiência de K^+ , a folha F1 manteve igualdade estatística de atividade de IN, enquanto que nas folhas F5 houve um aumento de 98,5%, em comparação ao nível das folhas controle de mesma posição (Fig. 15D). Nas folhas F1 em tratamento de recuperação de K^+ , houve uma redução de atividade de IN em 54,6%, enquanto que nas folhas F5, estes valores foram reduzidos e restaurados, tendo como referência as folhas controle de mesma posição (Fig. 15D).

Figura 15 Atividades de sacarose fosfato sintase (SFS) (A), sintase da sacarose (SS) (B), invertase ácida solúvel (IAS) (C) e invertase neutra (IN) (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras minúsculas na mesma folha representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e maiúsculas entre folhas diferentes representam diferenças significativas no mesmo tratamento pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias (\pm D.P.) de três repetições.

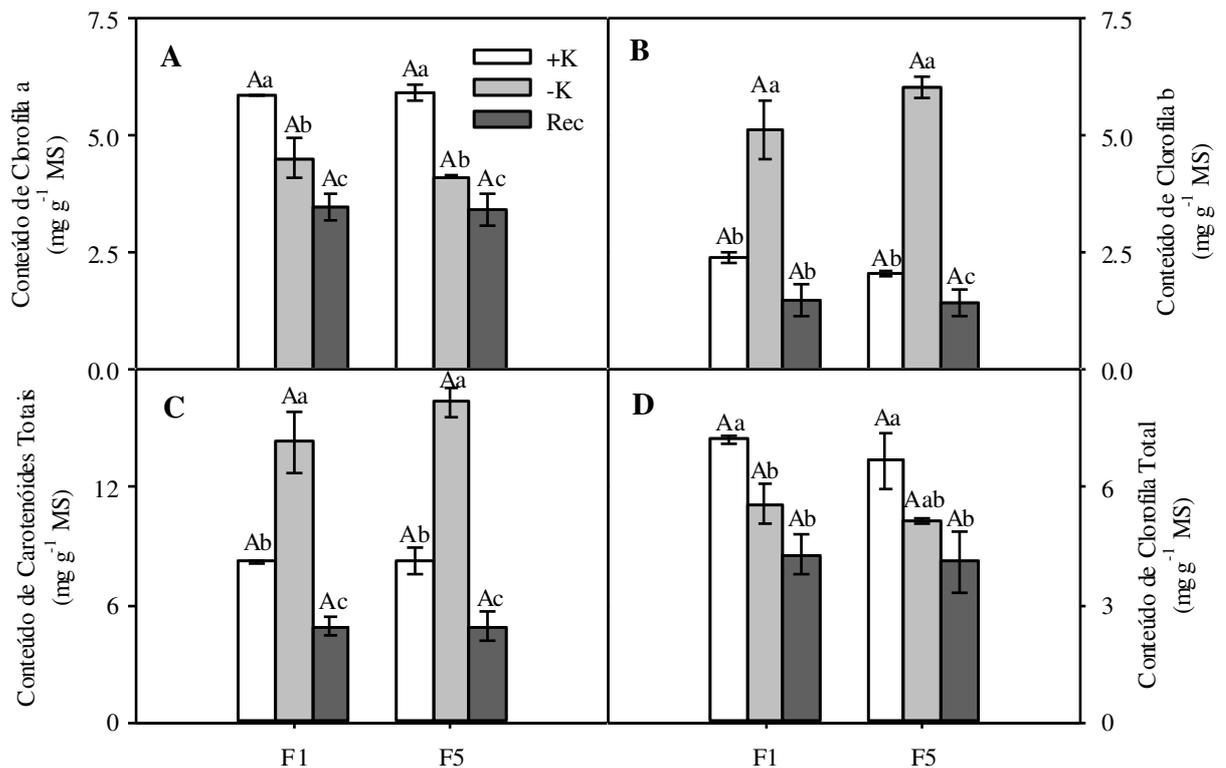


4.5 Conteúdo de clorofilas e carotenóides

Não houve diferença do conteúdo de clorofilas e carotenóides entre as folhas F1 e F5, dentro de cada tratamento (Fig. 16). O conteúdo de clorofila a foi reduzido na deficiência e após período de recuperação de K^+ nas folhas F1 e F5 (Fig. 16A). O conteúdo de clorofila b foi maior na deficiência de K^+ nas folhas F1 (113,1%) e F5 (193,0%), porém houve redução após período de recuperação de K^+ para o nível do controle nas folhas F1 e abaixo do controle em F5 (Fig. 16B). O conteúdo de carotenóides totais aumentou na deficiência de K^+ nas folhas F1 (77,4%) e F5 (95,2%), porém houve redução após período de recuperação de K^+ para níveis abaixo do controle nas folhas F1 e F5 (Fig. 16C). O conteúdo de clorofilas totais foi

reduzido na deficiência em F1 e mantido ao mesmo nível em F5, comparado ao controle, porém após período de recuperação de K^+ estes níveis foram reduzidos nas folhas F1 e F5 quando comparados ao controle (Fig. 16A).

Figura 16 Conteúdos de clorofila a (A), clorofila b (B), carotenóides totais (C) e clorofilas totais (D) nas folhas F1 e F5 de plantas de algodoeiro crescendo em solução nutritiva completa (+K) e deficiente (-K) após 23 dias de tratamento, seguido de período de 4 dias de recuperação com K^+ (Rec). Diferentes letras minúsculas na mesma folha representam diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e maiúsculas entre folhas diferentes representam diferenças significativas no mesmo tratamento pelo teste t ($P < 0,05$). Os valores são médias (\pm D.P.) de três repetições.



5 DISCUSSÃO

A menor produção de matéria seca nas partes de plantas deficientes em K^+ provavelmente foi devido à influência deste elemento nas diversas vias metabólicas vitais (BARKER e PILBEAM, 2015). As folhas FJ poderiam ser consideradas fortes drenos para translocação de K^+ , principalmente na condição de deficiência (EPRON *et al.*, 2016). O provável aumento do fluxo de K^+ no floema poderia ter ocasionado o aumento do percentual de K^+ nos caules. Assim, pode ter ocorrido aumento da saída de K^+ das folhas mais velhas para as mais novas, na medida em que as primeiras poderiam ter seu processo de senescência acelerado pela deficiência de K^+ (HOPKINS e HUNER, 2009; WANG *et al.*, 2012b).

Apesar do aumento do fluxo de K^+ para as folhas mais jovens, houve tendência de redução de matéria seca e do crescimento em área foliar nestas folhas, o que provavelmente esteve ligado ao turgor celular. Hsiao e Xu (2000), trabalhando com folhas de algodão, relataram que variações mínimas no CRA, acima de 85%, resultaram em queda do potencial hídrico, parcialmente devida a menor pressão hidrostática celular. O acúmulo de açúcares nas folhas F5 deficientes poderia ter compensado osmoticamente a perda de K^+ , resultando provavelmente em menores perdas do potencial de turgescência (GERARDEAUX *et al.*, 2010). Na deficiência, o conteúdo de K^+ translocado para as folhas mais jovens teria sido insuficiente para as suas fases de alongamento e expansão. No tratamento de recuperação, o aumento do percentual de matéria seca nas folhas FJ indica que a planta priorizou o crescimento das folhas mais jovens, e esteve relacionado ao maior aporte de K^+ para estas folhas.

Embora os níveis de K^+ não tivessem diferido entre as folhas F1 e F5 deficientes, as plantas tiveram redução de matéria seca nas folhas de F3 a F6 e área foliar de F4 a F6, porém estes indicadores não foram alterados nas folhas mais velhas. As taxas fotossintéticas e o metabolismo de açúcares também tiveram comportamento bastante diverso entre as folhas F1 e F5 na deficiência de potássio. Assim, a demarcação dos níveis críticos de K^+ que limitaram o crescimento, as taxas fotossintéticas e o metabolismo de açúcares dependeriam da idade das folhas, sendo mais críticos em folhas jovens. Esta redução do crescimento em folhas jovens esteve associada com a queda mais acentuada da assimilação de CO_2 na deficiência, comparada ao controle. No tratamento de recuperação, os níveis de K^+ foram maiores nas folhas de F5 a F6, o que pode ter sido relacionado à melhor recuperação da assimilação de CO_2 nestas folhas.

Na deficiência, o conteúdo de K^+ teria sido suficiente para a produção normal de matéria seca em F1 e F2 e área foliar de F1 a F3 nos seus estágios de alongamento e expan-

são, e podem estar relacionados com a maior distância para as folhas FJ, os drenos mais fortes da planta. A assimilação de CO₂ nas folhas de F1 a F6 provavelmente foi limitada por reduções da condutância estomática e transpiração, estando relacionados a influência do íon K⁺ em processos de abertura e fechamento estomáticos (BARKER e PILBEAM, 2015). No entanto, tendo em vista os elevados níveis de Ci nas folhas F1 a F5, provavelmente as limitações metabólicas ou bioquímicas teriam sido a causa primária das reduções de assimilação de CO₂ nestas folhas.

Os valores relativos de ETR podem ser importantes para estimativas de estresse (BAKER, 2008). O menor fluxo de elétrons nas folhas deficientes poderia estar relacionado com o papel do K⁺ na manutenção da força motriz de prótons no interior dos cloroplastos (MARSCHNER, 2012). A síntese de ATP e NADPH no fluxo linear de elétrons estão intimamente associadas. Se a força motriz de prótons for limitada, relacionada aos substratos ADP ou Pi, o fluxo de elétrons para NADP⁺ será reduzido (KRAMER e EVANS, 2011). Na deficiência de K⁺, a limitação bioquímica poderia ter sido mais crucial para a redução da assimilação de CO₂, sendo o fluxo de elétrons direcionado para as vias de oxidação de componentes celulares que resultaram em maior DM nas folhas individuais de F1 a F6 deficientes (KONO e TERASHIMA, 2016) (Fig. 10). Na recuperação das folhas de F1 a F6, em geral, o menor fluxo de elétrons foi mantido, exceto com pequena recuperação nas folhas F5, estando associados aos maiores níveis de K⁺ nas folhas F5 e F6. Os resultados de $\Delta F/F_m'$ foram similares aos obtidos para assimilação líquida de CO₂ e ETR. Nas folhas F6 em recuperação, os níveis de $\Delta F/F_m'$ foram restaurados ao nível do controle, e estiveram associados aos maiores níveis de K⁺ nestas folhas.

É suposto que as alterações no conteúdo de amido nas folhas F5 na deficiência e recuperação de K⁺ teriam sido consistentes com a influência da atividade da enzima amido sintetase, dependente de K⁺ como cofator na síntese de amido (MAATHUIS, 2014). A menor síntese de amido na deficiência em F5 poderia ter concordância com a suposta clivagem do amido por α -amilases, resultando no aumento dos níveis de glicose. Com isto, a diminuição dos conteúdos de sacarose e amido, nas folhas F5 deficientes em K⁺, acarretou em mudanças que principalmente resultaram no acúmulo de glicose e, conseqüentemente, dos níveis de açúcares solúveis totais. Nas folhas F1 e F5, a oscilação dos níveis de açúcares solúveis totais em todos os tratamentos, teve direta associação com as mudanças no conteúdo de glicose. O acúmulo deste açúcar, por sua vez, poderia ter atuado na sinalização para a redução do crescimento destas folhas (GERARDEAUX *et al.*, 2010).

Nas folhas F5 deficientes em K^+ , o aumento da clivagem e menor síntese de sacarose, e a mobilização de amido, poderiam ter levado ao aumento de frutose e principalmente glicose, direcionando-os para a via glicolítica (BARKER e PILBEAM, 2015). A frutose parece ser o substrato preferido de hexose quinases, uma vez que a relação entre seu K_m para frutose e K_m para glicose em plantas é de 0,04 (PREISS, 2014). Kursanov *et al.* (1969) relataram que hexose quinases ativadas por K^+ na fração solúvel obtida a partir de finas fatias de beterraba sacarina foram mais efetivas na fosforilação de D-frutose do que D-glicose. Isto poderia explicar os maiores níveis em geral de glicose, independente do tratamento, comparados com frutose, sendo compatíveis com os menores níveis de frutose nas folhas F5 deficientes.

O potássio tem um impacto benéfico sobre o *status* energético na planta (BARKER e PILBEAM, 2015). Foi relatado que nos estágios iniciais de deficiência de K^+ , as taxas de respiração no escuro foram inicialmente aumentadas e, após a deficiência se tornar severa, a respiração no escuro foi suprimida (OOSTERHUIS *et al.*, 2014). A maior atividade respiratória, por sua vez, requer o aumento do fluxo de açúcares que poderia ser satisfeito por um aumento da atividade de invertases (ROITSCH e GONZALEZ, 2004). Apesar de várias enzimas da via glicolítica, como piruvato quinase, aldolases e hexoquinases, serem dependentes do K^+ como cofator (EVANS e SORGER, 1966), é suposto que esta via teve sua atividade aumentada pela deficiência em folhas F5.

As relativas maiores atividades de SFS, SS e IAS nas folhas F1 do controle, comparadas às respectivas folhas F5, sugerem que as folhas mais velhas foram o principal sítio de atividade do metabolismo de açúcares, e teriam sido fontes de fotoassimilados. Nas folhas F1 deficientes, porém, a manutenção das atividades enzimáticas de síntese e clivagem de sacarose e a manutenção do conteúdo de amido, mostram que a deficiência de K^+ interferiu minimamente sobre o metabolismo e o balanço de açúcares nestas folhas. É possível que as folhas F5 e adjacentes, na deficiência, não tenham alcançado a condição de órgãos-fonte, evidenciado pelo fato de que os níveis de sacarose de F1, independente do tratamento, foram mantidos em geral no mesmo patamar de F5, o que induz a supor que parte da sacarose em F5 tenha sido importada de folhas-fontes. Assim, na deficiência, parte da sacarose sintetizada em F1 pode ter sido impedida de ser translocada para drenos específicos, como supostamente F5, o que pode ter levado ao seu pequeno acúmulo em F1 (folha fonte).

O aumento da relação invertases/SS poderia induzir a via SS de clivagem da sacarose (PERATA; GUGLIELMINETTI; ALPI, 1997), e assim induzir o sistema de sinalização por hexoses, com menor conservação de carbono e ATP (MIRAJKAR; SUPRASANNA; VAIDYA, 2016). A glicose acumulada poderia atuar como um sinalizador na regulação de

genes fotossintéticos em plantas superiores (SHEEN, 1994). A glicose é considerada uma chave central para diversas vias de regulação e sinalização, e integra sinais externos para adaptar as células ao estresse abiótico, crescimento e desenvolvimento (AVONCE *et al.*, 2005). Estas evidências, no entanto, não têm sido conclusivas e necessitam de mais estudos para demonstrá-la (MCCORMICK; CRAMER; WATT, 2006).

Pettigrew (1999) relatou que a glicose foi o único açúcar foliar consistentemente modificado e aumentado na deficiência de potássio. O forte aumento e queda no conteúdo de glicose em folhas jovens foram consistentes com a queda e recuperação da assimilação líquida de CO₂, respectivamente, nos tratamentos aplicados, quando comparados ao controle. As causas bioquímicas para a redução das taxas fotossintéticas poderiam ter sido consistentes com o *feedback* causado pelo acúmulo deste açúcar, nestas folhas. Estudos recentes indicam que a melhor evidência sobre o sistema para sinalização de *feedback*, levando ao acúmulo de açúcares, poderia vir de hexose quinases, que fosforilam glicose (hexoquinase) e frutose (frutoquinase) (GRANOT; DAVID-SCHWARTZ; KELLY, 2013; TIESSEN e PADILLA-CHACON, 2013; SMEEKENS e HELLMANN, 2014).

Embora tivessem os mesmos níveis de K⁺ na deficiência, as folhas F1 e F5 demonstraram diferentes respostas quanto aos parâmetros de crescimento, assimilação de CO₂ e metabolismo de açúcares, sugerindo que os efeitos da deficiência de K⁺ teriam sido indiretos e dependentes do estágio de desenvolvimento foliar e relações fonte-dreno, além de outros fatores do metabolismo integral da planta (VIDAL, 2015). Assim, o estudo da influência do K⁺ em plantas torna-se incipiente se não for tomado em consideração o estágio de desenvolvimento da folha/órgão em estudo, e o metabolismo das demais folhas/órgãos associados (AHMAD e MAATHUIS, 2014). Aparentemente, o crescimento e o metabolismo fotossintético e de açúcares nas folhas F1 foi menos alterado na deficiência de K⁺, na medida em que estas folhas estavam posicionadas mais distantes das folhas FJ (fortes drenos) (HU *et al.*, 2015).

A igualdade dos níveis de K⁺ em geral nas folhas de F1 a F5 deficientes pode ter contribuído para dar estabilidade às relações fonte-dreno, mantendo o metabolismo fotossintético e de açúcares das folhas F1 em linhas praticamente estáveis (AHMAD e MAATHUIS, 2014). Pelos resultados obtidos, os níveis críticos de K⁺ que limitaram o crescimento, fotossíntese e o metabolismo de açúcares variaram conforme o estágio de desenvolvimento das folhas e poderiam depender dos níveis de K⁺ disponíveis no solo, de fatores abióticos, do metabolismo da planta em geral e da espécie vegetal, tornando o seu estudo complexo. O crescimento e desenvolvimento das plantas, por sua vez, são acompanhados por mudanças nas relações fonte-dreno (ROITSCH e GONZALES, 2004).

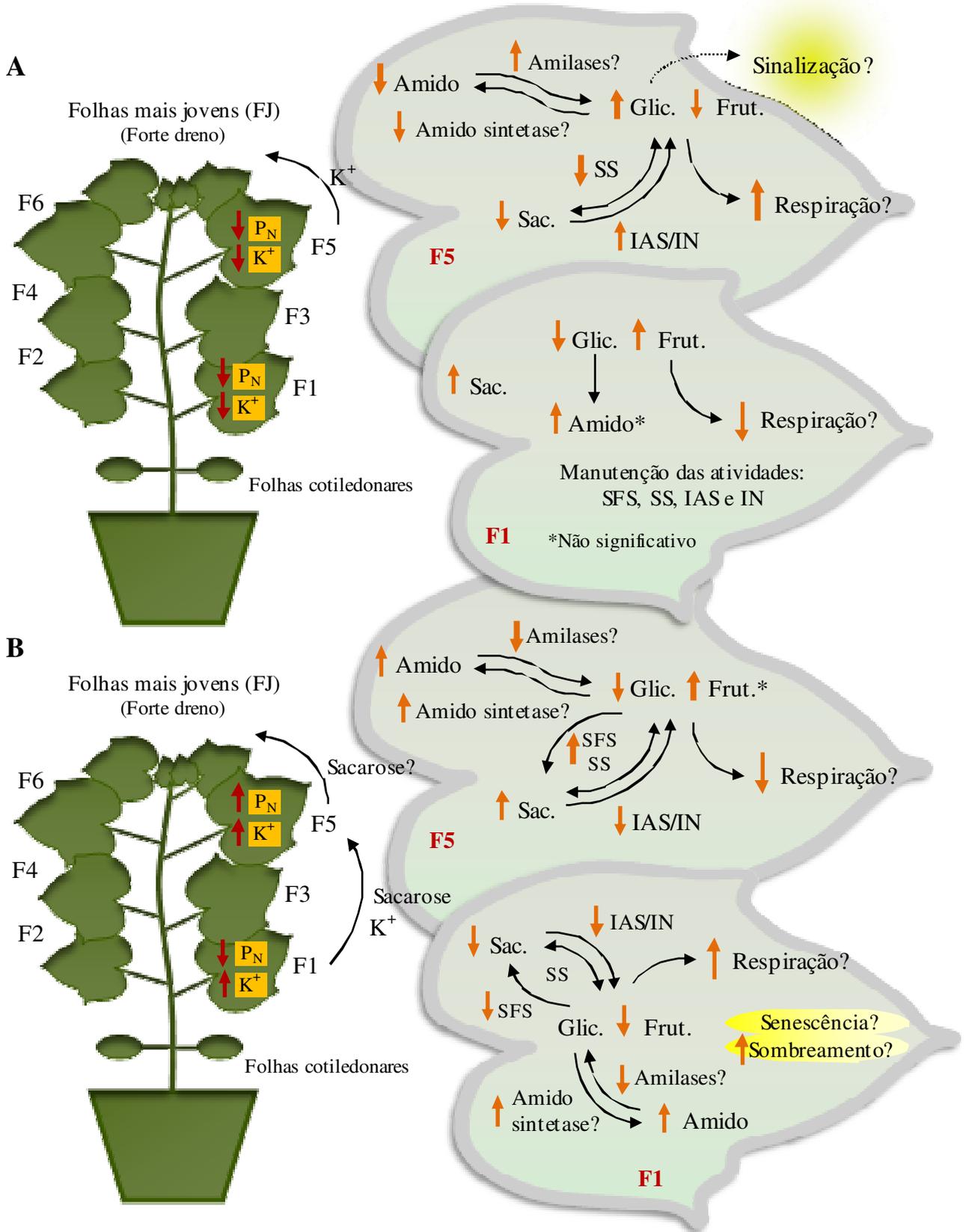
Uma provável explicação para a queda do metabolismo fotossintético na recuperação de folhas F1 seria de que as mesmas poderiam estar em processo de senescência envolvida com a saída de potássio (WANG *et al.*, 2012b), uma vez que as folhas mais velhas são mais susceptíveis à senescência (HOPKINS e HUNER, 2009). Este processo pode ser acompanhado da degradação de clorofilas, resultando em clorose foliar e necrose (JUNG; SHIN; SCHACHTMAN, 2009; ARMENGAUD; BREITLING; AMTMANN, 2010; ZHANG e ZHOU, 2013). No entanto, não ocorreram sintomas visuais de deficiência de potássio nas folhas. Além disso, o conteúdo de carotenóides totais, clorofilas totais, clorofilas a e b, entre as folhas F1 e F5, não diferiram entre si, independentemente do tratamento. Portanto, estes resultados não foram conclusivos acerca da ocorrência de senescência em folhas F1. Por outro lado, a redução do metabolismo fotossintético poderia ter ocorrido devido ao aumento do sombreamento e a redução da força do dreno.

Foi relatado que a clorose inicial provocada pela deficiência de K^+ ocorreu devido à acumulação aumentada de fotossintatos em folhas (CAKMAK; HENGELER; MARSCHNER, 1994; LAVON *et al.*, 1995), que predispõe o aumento da foto-sensibilidade e a destruição foto-oxidativa de clorofila (MURAGE; SATO; MASUDA, 1996). A clorofila b e carotenóides estão envolvidas ao sistema de fotoproteção das folhas. Alterações no conteúdo de clorofila foliar podem reduzir a luz percebida pelos cloroplastos e levaria a uma resposta de aclimatação (DINÇ *et al.*, 2012). Uma baixa razão clorofila a/b significa grande dimensionamento de sistema de antena, e tem a função de aperfeiçoar a utilização da menor intensidade de luz interna (FUKSHANSKY e REMISOWSKY, 1992).

A redução do conteúdo de clorofila a poderia ter resultado na limitação do fluxo linear de elétrons. No entanto, em folhas jovens, a influência do K^+ na geração da força motriz de prótons supostamente poderia ter sido essencial na recuperação fotossintética (MARSCHNER, 2012), tendo em vista que houve redução do conteúdo de clorofila a nestas folhas. O acúmulo de carotenóides totais pode significar o aumento da capacidade de absorção da luz do espectro azul, além de proteger o aparato fotossintético contra ROS, especialmente oxigênio singleto produzido de clorofilas excitadas no estado tripleto (RAMEL; MIALOUNDA-MA; HAVAUX, 2013). No entanto, estes mecanismos de adaptação envolvidos com a deficiência de potássio ainda não foram relacionados de modo conclusivo. Assim, é suposto que estas alterações ocorreram no sentido de adaptação aos possíveis danos causados pelo aumento de ROS, na deficiência de potássio, ou ao aumento de luz perceptível, que poderia levar a danos nos cloroplastos.

Presume-se que as folhas velhas foram o principal sítio de atividade do metabolismo de açúcares em condições normais de nutrição, sendo menos susceptíveis a alterações metabólicas em baixos níveis de potássio, sendo também relacionado com a maior distância para os drenos mais fortes da planta. As folhas mais jovens foram mais susceptíveis a alterações do crescimento, fotossíntese e metabolismo de açúcares envolvidos com K^+ (ROSOLEM e MIKKELSEN, 1991). O modelo encontrado pelo presente estudo pode ser visualizado na Figura 18. Após o período de recuperação de potássio, as folhas F1 poderiam ter renovado a capacidade de exportar sacarose para folhas-drenos. A queda substancial da assimilação de CO_2 nos tratamentos de deficiência e recuperação de F1 não esteve relacionada com alterações de açúcares nestas folhas.

Figura 17 Modelo sugerido para o metabolismo de açúcares: (A) em folhas deficientes em K^+ , comparado ao controle; (B) em recuperação de K^+ , em comparação à deficiência de K^+ .



5.1 Considerações finais

Devido à elevada C_i em folhas de F1 a F5 deficientes, as limitações bioquímicas parecem ter sido a causa primária para a redução fotossintética em folhas. Os dados obtidos em folhas jovens não foram suficientes para provar que o acúmulo de açúcares, em especial a glicose, esteve relacionado à regulação negativa da fotossíntese na deficiência de K^+ . Em folhas jovens, a privação de K^+ afetou negativamente o crescimento, fotossíntese e o metabolismo de açúcares, mas estes processos puderam ser recuperados ao suprimir-se a deficiência. As folhas velhas foram menos susceptíveis a alterações destes indicadores, mas estes foram menos passíveis de serem recuperados. A demarcação de níveis críticos de K^+ que limitaram estes processos foi dependente de fatores como a idade das folhas, relações fonte-dreno e o metabolismo integral da planta.

6 CONCLUSÃO

Os níveis similares de potássio em folhas de diferentes idades determinam diferentes respostas ao crescimento, fotossíntese e o metabolismo de açúcares, sugerindo que estes processos possam ter sido modulados indiretamente.

REFERÊNCIAS

- ABROL, Y. P. *et al.* (Ed.). Photosynthesis: photoreactions to plant productivity. **Springer Science & Business Media**, 2012.
- ADAMS, W. W.; MULLER O.; COHU, C. M.; DEMMIG-ADAMS, B. May photo inhibition be a consequence, rather than a cause, of limited plant productivity? **Photosynth. Res.** 117, 31 – 44, 2013.
- AHMAD, I.; MAATHUIS, F. J. M. Cellular and tissue distribution of potassium: Physiological relevance, mechanisms and regulation. **Journal of Plant Physiology**. v. 171, p. 708-714. 2014.
- ARAYA, T.; NOGUCHI, K.; TERASHIMA, I. Effects of carbohydrate accumulation on photosynthesis differ between sink and source leaves of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and cell physiology**, v. 47, n. 5, p. 644-652, 2006.
- ARMENGAUD, P; BREITLING, R.; AMTMANN, A. Coronatine-insensitive 1 (COI1) mediates transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* to external potassium supply. **Mol Plant** 3: 390–405. 2010.
- ASHLEY, D. A.; GOODSON, R. D. Effect of time and plant K status on ¹⁴C-labeled photosynthate movement in cotton. **Crop Science**, v. 12, n. 5, p. 686-690, 1972.
- AVONCE, N. *et al.* Trehalose metabolism and glucose sensing in plants. **Biochemical Society Transactions**, v. 33, n. 1, p. 276-279, 2005.
- BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo, **Annu. Rev. Plant Biol.** 2008. 59:89–113. 2008.
- BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (Ed.). **Handbook of plant nutrition**. CRC press, 2015.
- BARRS, H. D. Determination of water deficits in plant tissue. In: KOZLOWSKI, T.T.(Ed) **Water deficits and plant growth**. New York, Academic Press, v.1, p.235-368, 1968.
- BASILE, B.; REIDEL, E.J.; WEINBAUM, S.A; DEJONG, T.M. Leaf potassium concentration, CO₂ exchange and light interception in almond trees (*Prunus dulcis* (Mill) D.A. Webb). **Scientia Horticulturae**. v.98, p.185–194, 2003.
- BATTIE-LACLAU, P.; LACLAU, J-P.; BERI, C.; MIETTON, L.; MUNIZ, M. R. A; ARENQUE, B. C.; PICCOLO, M. C.; JORDAN-MEILLE, L.; BOUILLET, J-P.; NOUVELLON, Y. Photosynthetic and anatomical responses of *Eucalyptus grandis* leaves to potassium and sodium supply in a field experiment. **Plant, Cell and Environment**, v. 37, p. 70–81. 2014.
- BHANDAL, I.S.; MALIK, C. P. Potassium estimation, uptake, and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. **International Review of Cytology**, 110:205-254. 1988.

- BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v. 21, p. 43-47, 1981.
- BOYER, J. S. Measurement of the water status of plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.9, p.351-363, 1968.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- CAKMAK, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. **J Plant Nutr Soil Sci** 168:521–530, 2005.
- CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSCHNER, H., 1994. Partitioning of shoot and root dry weight and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. **J. Exp. Bot.**, 45: 1245- 1250.
- COSKUN, D. *et al.* Capacity and plasticity of potassium channels and high-affinity transporters in roots of barley and *Arabidopsis*. **Plant physiology**, v. 162, n. 1, p. 496-511, 2013.
- DE SCHEPPER, V.; DE SWAEF, T.; BAUWERAERTS, I.; STEPPE, K. Phloem transport: a review of mechanisms and controls. **J Exp Bot** 64:4839–4850. 2013.
- DEGL'INNOCENTI, E.; HAFSI, C.; GUIDI, L.; NAVARI-IZZO, F. The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species. **J Plant Physiol** 166:1968–1981, 2009.
- DEMMIG-ADAMS, B.; STEWART, J. J.; ADAMS, W. W. Multiple feedbacks between chloroplast and whole plant in the context of plant adaptation and acclimation to the environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1640, p. 20130244, 2014.
- DINC, E. *et al.* The chl a fluorescence intensity is remarkably insensitive to changes in the chlorophyll content of the leaf as long as the chl a/b ratio remains unaffected. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1817, n. 5, p. 770-779, 2012.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- EPRON, D. *et al.* In situ ¹³CO₂ pulse labelling of field-grown eucalypt trees revealed the effects of potassium nutrition and throughfall exclusion on phloem transport of photosynthetic carbon. **Tree physiology**, v. 36, n. 1, p. 6-21, 2016.
- EREL, R. *et al.* Modification of non-stomatal limitation and photoprotection due to K and Na nutrition of olive trees. **Journal of plant physiology**, v. 177, p. 1-10, 2015.
- EVANS, H. J.; SORGER, G. J. Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 17:47–76. 1966.

- EWING, G. W. Métodos instrumentais de análise química. v.1. Ed. Edgard Blücher: São Paulo, 1972. 71p.
- FIDELES FILHO, J.; BELTRÃO, N. E. de M.; PEREIRA, A. S. Desenvolvimento de uma régua para medidas de área foliar do algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 7, p. 736–741, 2010.
- FLEXAS, J. *et al.* Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 10, p. 1284-1298, 2007.
- FUKSHANSKY, L.; REMISOWSKY A. M. V. A theoretical study of the light microenvironment in a leaf in relation to photosynthesis, **Plant Sci.** 86. 167–182. 1992.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.990, p.87-92, 1989.
- GERARDEAUX, E.; JORDAN-MEILLE, L.; CONSTANTIN, J.; PELLERIN, S.; DINGKUHNE, M. Changes in plant morphology and dry matter partitioning caused by potassium deficiency in *Gossypium hirsutum* (L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, p. 451–459. 2010.
- GERARDEAUX, E.; SAUR, E.; CONSTANTIN, J.; PORTÉ, A.; JORDAN-MEILLE, L. Effect of carbon assimilation on dry weight production and partitioning during vegetative growth. **Plant Soil**, v.324, p. 329–343, 2009.
- GRANOT D.; DAVID-SCHWARTZ R.; KELLY G. Hexose kinases and their role in sugar-sensing and plant development. **Front. Plant. Sci.** 4:44. 2013.
- GRIMES, D. W.; CARTER, L. M. A linear rule for direct nondestructive leaf area measurements. **Agronomy Journal**, v. 3, n. 61, p. 477-479, 1969.
- HAFSI, C.; DEBEZ, A.; ABDELLY, C. Potassium deficiency in plants: effects and signaling cascades. **Acta physiologiae plantarum**, v. 36, n. 5, p. 1055-1070, 2014.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.
- HOPKINS, W. G.; HUNER, N. P. A. **Introduction to Plant physiology**, 4th ed, John Wiley & Son, Inc., NJ. 2009.
- HORACIO, P.; MARTINEZ-NOEL, G. Sucrose signaling in plants: a world yet to be explored. **Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 3, p. e23316, 2013.
- HSIAO, T. C.; XU, L. K. Sensitivity to growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**, V. 51, p. 1595-1616. 2000.

- HU, W. *et al.* Potassium application affects carbohydrate metabolism in the leaf subtending the cotton (*Gossypium hirsutum* L.) boll and its relationship with boll biomass. **Field Crops Research**, v. 179, p. 120-131, 2015.
- HUANG, M. *et al.* Proteomic analysis to investigate the high starch accumulation of duckweed (*Landoltia punctata*) under nutrient starvation. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 299-308, 2014.
- HUBBARD, N. L.; HUBER, S. C.; PHARR, D. M. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. **Plant physiology**, v. 91, n. 4, p. 1527-1534, 1989.
- HUBER, S. C. Biochemical basis for effects of K-deficiency on assimilate export rate and accumulation of soluble sugars in soybean leaves. **Plant Physiol.** 76, 424–430. 1984.
- JIN, S. H.; HUANG, J. Q.; LI, X. Q.; ZHENG, B. S.; WU, J. S.; WANG, Z. J. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. **Tree Physiol** 31:1142–51, 2011.
- JUNG, J. Y.; SHIN, R.; SCHACHTMAN, D. P. Ethylene mediates response and tolerance to potassium deprivation in *Arabidopsis*. **Plant Cell** 21: 607–621. 2009.
- KANAI, S.; MOGHAIEB, R. E.; EL-SHEMY, H. A.; PANIGRAHI, R.; MOHAPATRA, P. K.; ITO, J.; NGUYEN, N. T.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Potassium deficiency affects water status and photosynthetic rate of the vegetative sink in green house tomato prior to its effects on source activity. **Plant Science**, v. 180, p. 368–374, 2011.
- KILB, B.; WIETOSKA, H.; GODDE, D. Changes in the expression of photosynthetic genes precede loss of photosynthetic activities and chlorophyll when glucose is supplied to mature spinach leaves. **Plant Sci.** 115, 225–235, 1996.
- KONO, M.; TERASHIMA, I. Elucidation of photoprotective mechanisms of PSI against the fluctuating light photoinhibition. **Plant and Cell Physiology**, p. pcw103, 2016.
- KRAMER, D. M.; EVANS, J. R. The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 70-78, 2011.
- KRAPP, A.; QUICK, W. P.; STITT, M. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase, other Calvin-cycle enzymes and chlorophyll decrease when glucose is supplied to mature spinach leaves via the transpiration stream. **Planta** 186: 58–69. 1991.
- KULSHRESTHA, S. *et al.* Invertase and its applications—a brief review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 9, p. 792-797, 2013.
- KURSANOV, D. N. *et al.* **Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.** 4. 1969.
- LAVON, R., GOLDSCHMIDT, E.; SALOMON, R.; FRANK, A. Effect of potassium, magnesium, and calcium deficiencies on carbohydrate pools and metabolism in Citrus leaves. **J. Am. Soc. Hort. Sci.**, 120: 54-58. 1995.

- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol** 148: 350–382, 1987.
- LOBO, A. K. M. *et al.* Exogenous sucrose supply changes sugar metabolism and reduces photosynthesis of sugarcane through the down-regulation of Rubisco abundance and activity. **Journal of plant physiology**, v. 179, p. 113-121, 2015.
- MAATHUIS, F. J. M. Sodium in plants: perception, signaling, and regulation of sodium fluxes. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 3, p. 849-858, 2014.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants, Third Edition**. Academic Press, London. 2012.
- MCCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Regulation of photosynthesis by sugars in sugarcane leaves. **Journal of plant physiology**, v. 165, n. 17, p. 1817-1829, 2008.
- MCCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Sink strength regulates photosynthesis in sugarcane. **New Phytologist**, v. 171, p. 759-770, 2006.
- MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylase in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156-1158, 1950.
- MENGEL, K. Effect of potassium on the assimilate conduction to storage tissue. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 93, n. 1, p. 353-362, 1980.
- MIRAJKAR, S. J.; SUPRASANNA, P.; VAIDYA, E. R. Spatial distribution and dynamics of sucrose metabolising enzymes in radiation induced mutants of sugarcane. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 100, p. 85-93, 2016.
- MURAGE, E. N.; SATO, Y.; MASUDA, M. Relationship between dark period and leaf chlorosis, potassium, magnesium and calcium content of young eggplants. **Scientia horticulturae**, v. 66, n. 1, p. 9-16, 1996.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 1328 p. 2014.
- OOSTERHUIS, D. M. *et al.* The physiology of potassium in crop production. **Advances in Agronomy**, v. 126, p. 203-233, 2014.
- PAUL, M. J.; DRISCOLL, S. P. Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signalling nitrogen deficiency through source: sink imbalance. **Plant, cell & environment**, v. 20, n. 1, p. 110-116, 1997.
- PAUL, M. J.; PELLNY, T. K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. **Journal of experimental botany**, v. 54, n. 382, p. 539-547, 2003.
- PEOPLES, T. R.; KOCH, D.W. Role of potassium in carbon dioxide assimilation in *Medicago sativa* L. **Plant Physiol.** 63, 878–881. 1979.

PERATA, P.; GUGLIELMINETTI, L.; ALPI, A. Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. **Ann Bot** 79: 49–56. 1997.

PETTIGREW, W. T. Potassium deficiency increases specific leaf weights and leaf glucose levels in field-grown cotton. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 6, p. 962-968, 1999.

PREISS, J. (Ed.). **Carbohydrates: Structure and Function: The Biochemistry of Plants**. Elsevier, 2014.

RAMEL, F.; MIALOUNDAMA, A. S.; HAVAUX, M. Nonenzymic carotenoid oxidation and photooxidative stress signalling in plants. **Journal of experimental botany**, v. 64, n. 3, p. 799-805, 2013.

ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M.-C. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. **Trends in plant science**, v. 9, n. 12, p. 606-613, 2004.

RÖMHELD, V.; KIRKBY, E. A. Research on potassium in agriculture: needs and prospects. **Plant Soil**, v.335, p.155–180. 2010.

ROSOLEM, C. A.; MIKKELSEN, D. S. Potassium absorption and partitioning in cotton as affected by periods of potassium deficiency. **Journal of plant nutrition**, v. 14, n. 9, p. 1001-1016, 1991.

SCHREIBER, U. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. In: GEORGE, C.P.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll a Fluorescence: a Signature of Photosynthesis**. Dordrecht: Springer, p. 280–312, 2004.

SHABALA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia plantarum**, v. 151, n. 3, p. 257-279, 2014.

SHEEN, J. Feedback control of gene expression. **Photosynthesis Research**, v. 39, n. 3, p. 427-438, 1994.

SILVA, E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L.; FONTENELE, A. V.; RIBEIRO, R. V.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p.1157-1164, 2010.

SMEEKENS, S.; HELLMANN, H. A. Sugar sensing and signaling in plants. **Frontiers in plant science**, v. 5, 2014.

STITT, M.; ZEEMAN, S. C. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. **Current opinion in plant biology**, v. 15, n. 3, p. 282-292, 2012.

SULPICE, R.; PYL, E.-T.; ISHIHARA, H.; TRENKAMP, S.; STEINFATH, M.; WITUCKA-WALL, H.; GIBON, Y.; USADEL, B.; POREE, F.; PIQUES, M. C. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. **Proc Natl Acad Sci USA** 106: 10348–10353. 2009.

TIESSEN, A.; PADILLA-CHACON, D. Subcellular compartmentation of sugar signaling: links among carbon cellular status, route of sucrolysis, sink-source allocation, and metabolic partitioning. **Front. Plant. Sci.** 3:306. 2013.

VAN HANDEL, E. Direct micro determination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, p. 280-283, 1968.

VIDAL, J. B. **Crescimento reduzido de plantas de milho deficientes em potássio não está diretamente ligado à queda na atividade fotossintética**. Fortaleza: UFC, 2015. 61p. Dissertação Mestrado.

WAKEEL, A. Potassium–sodium interactions in soil and plant under saline-sodic conditions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 3, p. 344-354, 2013.

WANG, N.; HUA, H.; EGRINYA ENEJI, A.; LI, Z.; DUAN, L.; TIAN, X. Genotypic variations in photosynthetic and physiological adjustment to potassium deficiency in cotton (*Gossypium hirsutum*). **J. Photochem. Photobiol. B** 110, 1–8. 2012a.

WANG, Y.; LI, B.; DU, M.; ENEJI, A.E.; WANG, B.; DUAN, L.; LI, Z.; TIAN, X. Mechanism of phytohormone involvement in feedback regulation of cotton leaf senescence induced by potassium deficiency. **J. Exp. Bot.** 63, 5887–5901. 2012b.

WANG, Y.; WU, W.-H. Potassium transport and signaling in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 451-476, 2013.

WARD, J. M. *et al.* Sucrose transport in higher plants. **International review of cytology**, v. 178, p. 41-71, 1997.

WENG, X. Y.; ZHENG, C. J.; XU, H. X.; SUN, J. Y. Characteristics of photosynthesis and functions of the water-water cycle in rice (*Oryza sativa*) leaves in response to potassium deficiency. **Physiologia Plantarum**, v.131, p.614–621. 2007.

WHITE, P. J.; KARLEY, A. J. Potassium. In: HELL R., MENDEL R.R. **Cell biology of metals and nutrients**, Springer, Heidelberg, p. 199–224, 2010.

WYN JONES, R. G.; BRADY, C. J.; SPEIRS, J. Ionic and osmotic relations in plant cells, p. 63-103. In: D.L. Laidman and R.G. Wyn Jones (eds.). **Recent advances in the Biochemistry of cereals**. Academic Press, London. 1979.

ZEEMAN, S. C., KOSSMANN, J., SMITH, A. M. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. **Annu Rev Plant Biol** 61: 209–234. 2010.

ZHANG, H.; ZHOU, C. Signal transduction in leaf senescence. **Plant molecular biology**, v. 82, n. 6, p. 539-545, 2013.

ZHAO, D.; OOSTERHUIS, D. M.; BEDNARZ, C. W. Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultrastructure of cotton plants. **Photosynthetica** 39(1):103–109, 2001.

ZHENG, B. *et al.* Effects of potassium on the contents and activities of Rubisco, Rubisco activase and photosynthetic rate in rice leaf. **Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)**, v. 27, n. 5, p. 489-494, 2000.

ZHU, Y. J.; KOMOR, E.; MOORE, P. H. Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase. **Plant Physiology**, v. 115, n. 2, p. 609-616, 1997.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E.; Potassium in agriculture – status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v.171, p. 656–669. 2014.

APÊNDICE A – DADOS TABELADOS

Tabela 1 Matéria seca (g) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas / órgãos	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	FJ	1,27	1,84	1,70
	F6	0,89	1,01	0,95
	F5	1,05	0,99	1,02
	F4	1,03	0,93	0,97
	F3	0,95	0,83	0,89
	F2	0,54	0,40	0,43
	F1	0,35	0,31	0,30
	Caules	3,01	3,26	3,07
	Raízes	0,89	0,95	1,13
-K	FJ	1,04	1,14	1,09
	F6	0,74	0,72	0,74
	F5	0,78	0,70	0,80
	F4	0,72	0,64	0,75
	F3	0,67	0,56	0,62
	F2	0,45	0,43	0,43
	F1	0,29	0,28	0,32
	Caules	2,10	2,03	2,06
	Raízes	0,61	0,68	0,69
Rec	FJ	2,86	2,74	2,18
	F6	1,11	1,07	1,33
	F5	1,29	1,10	1,29
	F4	1,04	0,66	1,13
	F3	0,85	0,83	0,84
	F2	0,56	0,62	0,62
	F1	0,36	0,52	0,44
	Caules	3,95	3,78	3,03
	Raízes	0,99	1,09	0,82

Tabela 2 Área foliar (cm²) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K⁺ (-K).

Tratamento	Folhas	Repetições					
		R1	R2	R3	R4	R5	R6
+K	F6	196,4	185,3	199,2	179,9	207,8	166,8
	F5	190,8	185,3	234,1	213,7	207,8	189,9
	F4	166,8	156,6	161,6	164,2	185,3	151,7
	F3	130,4	154,1	151,7	164,2	142,0	146,8
	F2	121,5	112,9	130,4	117,3	108,6	119,3
	F1	89,1	92,9	81,8	96,7	96,7	91,4
-K	F6	132,7	137,3	142,0	119,9	125,9	144,4
	F5	164,2	154,1	142,0	172,0	130,4	149,2
	F4	135,0	137,3	130,4	139,6	142,0	146,8
	F3	137,3	130,4	146,8	142,0	132,7	115,0
	F2	104,6	118,6	114,6	108,7	104,8	104,6
	F1	83,6	80,0	94,8	89,1	85,4	86,6

Tabela 3 Diâmetro do caule principal (mm) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K⁺ (-K).

Tratamento	Repetições								
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
+K	6,80	6,75	7,20	6,80	6,65	6,50	6,85	6,45	6,75
-K	5,50	5,00	5,10	5,60	5,10	5,45	5,05	5,20	5,20

Tabela 4 Altura das plantas (cm) dos tratamentos de controle (+K) e deficiência em K⁺ (-K).

Tratamento	Repetições								
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
+K	30,0	32,0	34,0	34,5	35,0	32,5	35,0	34,5	34,5
-K	31,0	31,0	28,5	31,0	30,0	29,0	31,0	31,0	30,5

Tabela 5 Conteúdo de K^+ ($g\ 100\ g^{-1}\ MS$) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas / órgãos	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	FJ	3,06	2,99	3,20
	F6	2,60	2,38	2,81
	F5	2,62	2,46	2,86
	F4	2,54	2,01	2,24
	F3	2,39	2,01	2,14
	F2	2,27	2,20	1,96
	F1	2,27	2,38	2,16
	Caules	1,99	1,98	1,75
	Raízes	5,35	5,65	5,39
-K	FJ	0,90	0,92	0,89
	F6	0,36	0,33	0,34
	F5	0,28	0,30	0,28
	F4	0,27	0,27	0,26
	F3	0,25	0,26	0,26
	F2	0,31	0,30	0,28
	F1	0,31	0,29	0,26
	Caules	0,45	0,41	0,38
	Raízes	0,81	0,77	0,74
Rec	FJ	1,30	1,25	1,06
	F6	0,98	1,10	1,21
	F5	1,14	1,08	1,02
	F4	0,90	0,97	1,04
	F3	1,05	0,91	0,77
	F2	0,90	0,74	0,58
	F1	0,78	0,72	0,65
	Caules	1,30	1,30	1,24
	Raízes	2,89	2,74	2,32

Tabela 6 Danos de membrana (%) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	26,30	25,50	27,50
	F5	27,64	26,54	28,74
	F4	28,75	25,68	27,22
	F3	24,71	25,15	28,82
	F2	23,87	24,46	26,79
	F1	29,32	27,84	30,80
-K	F6	34,86	31,53	33,20
	F5	32,02	35,17	33,60
	F4	35,80	33,47	34,64
	F3	34,04	31,87	32,95
	F2	33,02	30,62	31,82
	F1	34,42	32,47	33,45
Rec	F6	23,95	24,37	21,53
	F5	21,89	24,01	21,66
	F4	24,22	23,10	22,40
	F3	21,85	23,67	20,82
	F2	23,67	22,24	19,84
	F1	26,33	25,21	23,51

Tabela 7 Conteúdo relativo de água (%) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	83,40	73,97	74,71
	F5	84,59	83,15	79,62
	F4	87,13	81,05	81,12
	F3	87,30	87,89	83,98
	F2	89,64	86,82	82,14
	F1	87,40	87,99	87,72
-K	F6	66,82	71,43	70,54
	F5	75,24	75,96	72,16
	F4	74,65	77,41	76,93
	F3	75,17	78,52	73,58
	F2	73,10	75,94	80,30
	F1	79,02	83,62	81,22
Rec	F6	92,66	86,24	90,24
	F5	86,72	92,84	86,49
	F4	95,46	89,34	93,64
	F3	83,41	89,23	82,39
	F2	90,29	94,71	86,47
	F1	91,02	93,15	85,20

Tabela 8 Assimilação líquida de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	25,14	27,70	25,51
	F5	27,67	25,85	26,32
	F4	24,27	26,39	25,36
	F3	24,70	25,87	25,90
	F2	19,10	19,33	18,99
	F1	18,05	20,58	19,05
-K	F6	16,51	14,87	17,03
	F5	15,50	18,17	17,42
	F4	18,83	19,05	16,07
	F3	16,46	16,99	19,63
	F2	12,64	15,28	16,65
	F1	14,98	14,77	14,56
Rec	F6	23,95	25,43	22,57
	F5	21,34	21,46	23,03
	F4	17,54	21,80	19,63
	F3	14,39	16,96	16,12
	F2	14,88	10,55	13,37
	F1	10,21	12,12	8,75

Tabela 9 Concentração intercelular de CO₂ (Pa) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	29,10	28,92	27,11
	F5	27,71	26,91	28,27
	F4	27,37	25,94	28,29
	F3	28,07	29,88	27,32
	F2	29,55	26,42	28,20
	F1	29,47	29,85	28,25
-K	F6	24,68	23,90	25,04
	F5	25,38	25,43	26,77
	F4	26,69	27,25	25,21
	F3	26,12	26,54	28,57
	F2	25,40	27,02	27,22
	F1	25,92	27,92	28,13
Rec	F6	28,39	28,25	25,66
	F5	28,95	27,17	25,92
	F4	28,18	24,44	26,40
	F3	25,55	25,93	23,61
	F2	25,80	22,64	22,94
	F1	23,90	24,01	22,39

Tabela 10 Condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	0,623	0,674	0,595
	F5	0,666	0,581	0,630
	F4	0,657	0,554	0,594
	F3	0,514	0,629	0,560
	F2	0,459	0,371	0,399
	F1	0,396	0,359	0,453
-K	F6	0,234	0,232	0,273
	F5	0,232	0,309	0,308
	F4	0,317	0,356	0,291
	F3	0,300	0,290	0,388
	F2	0,235	0,271	0,306
	F1	0,233	0,289	0,293
Rec	F6	0,538	0,499	0,428
	F5	0,503	0,389	0,432
	F4	0,388	0,314	0,297
	F3	0,298	0,227	0,260
	F2	0,252	0,183	0,163
	F1	0,129	0,158	0,100

Tabela 11 Transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	7,589	7,948	7,230
	F5	7,476	7,005	7,948
	F4	7,123	6,526	7,719
	F3	7,079	6,524	7,634
	F2	5,574	5,159	5,989
	F1	5,823	5,443	6,202
-K	F6	4,569	4,220	4,919
	F5	4,798	5,168	4,428
	F4	4,906	5,273	4,539
	F3	5,049	4,594	5,504
	F2	4,695	4,216	5,175
	F1	4,725	4,426	5,023
Rec	F6	6,602	6,204	5,806
	F5	6,003	5,581	5,160
	F4	5,500	4,970	4,440
	F3	4,710	4,150	3,591
	F2	3,705	3,243	2,782
	F1	2,077	2,525	2,974

Tabela 12 Taxa de transporte de elétrons (ETR) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K⁺ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	199,67	188,43	210,91
	F5	190,42	200,68	214,16
	F4	195,10	205,82	184,39
	F3	192,47	174,99	209,95
	F2	132,98	146,25	127,04
	F1	123,31	150,91	136,71
-K	F6	159,24	149,42	151,02
	F5	136,22	151,14	157,13
	F4	135,28	139,64	144,13
	F3	129,44	132,66	138,60
	F2	99,52	118,49	120,35
	F1	109,47	101,45	109,22
Rec	F6	177,33	156,49	188,86
	F5	152,11	170,48	165,50
	F4	138,67	155,70	147,55
	F3	110,30	126,54	129,70
	F2	99,85	102,80	117,21
	F1	80,58	101,65	92,89

Tabela 13 Rendimento quântico do fotossistema II ($\Delta F/Fm'$) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F6	0,372	0,390	0,413
	F5	0,390	0,394	0,432
	F4	0,367	0,405	0,363
	F3	0,329	0,344	0,381
	F2	0,251	0,298	0,270
	F1	0,252	0,287	0,269
-K	F6	0,305	0,294	0,277
	F5	0,267	0,297	0,309
	F4	0,265	0,275	0,283
	F3	0,254	0,261	0,272
	F2	0,195	0,233	0,264
	F1	0,215	0,211	0,215
Rec	F6	0,348	0,377	0,371
	F5	0,298	0,355	0,325
	F4	0,283	0,325	0,309
	F3	0,237	0,268	0,234
	F2	0,196	0,202	0,230
	F1	0,158	0,200	0,182

Tabela 14 Conteúdo de açúcares solúveis totais ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	443,88	412,73	373,98
	F1	417,80	307,35	326,33
-K	F5	992,93	973,24	1072,15
	F1	241,18	274,95	237,72
Rec	F5	494,05	505,08	620,51
	F1	281,36	186,59	226,30

Tabela 15 Conteúdo de sacarose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	36,86	36,65	39,45
	F1	33,18	35,55	30,81
-K	F5	29,66	26,58	25,55
	F1	41,33	47,54	41,52
Rec	F5	54,19	50,68	57,70
	F1	35,33	32,16	36,28

Tabela 16 Conteúdo de amido ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	2195,81	2311,30	2252,67
	F1	1883,47	2009,43	2093,27
-K	F5	1489,39	1426,53	1649,47
	F1	2339,84	1845,11	2372,92
Rec	F5	3072,77	3103,27	3206,70
	F1	2508,79	4022,48	3258,70

Tabela 17 Conteúdo de glicose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	53,08	58,41	44,09
	F1	53,36	45,53	48,95
-K	F5	160,42	172,85	147,99
	F1	33,76	35,24	42,69
Rec	F5	80,49	70,92	81,34
	F1	42,01	31,39	38,49

Tabela 18 Conteúdo de frutose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	5,39	6,55	5,68
	F1	5,58	4,30	4,94
-K	F5	2,85	3,63	4,41
	F1	12,58	10,90	13,25
Rec	F5	5,82	4,87	5,05
	F1	10,08	9,19	9,46

Tabela 19 Atividade de sacarose fosfato sintase (SFS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	1,31	1,35	1,37
	F1	5,24	4,83	4,49
-K	F5	1,04	0,95	0,83
	F1	5,00	5,32	5,56
Rec	F5	1,98	2,36	2,42
	F1	3,52	3,85	3,46

Tabela 20 Atividade de sacarose sintase (SS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	2,03	1,72	2,15
	F1	4,67	5,00	4,47
-K	F5	1,17	1,05	1,08
	F1	4,18	3,95	4,46
Rec	F5	2,08	2,42	2,30
	F1	3,78	3,48	3,49

Tabela 21 Atividade de invertase ácida solúvel (IAS) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	13,55	12,36	13,47
	F1	19,73	17,70	20,34
-K	F5	26,08	25,51	26,07
	F1	14,58	17,32	15,95
Rec	F5	10,67	11,72	12,70
	F1	10,78	8,96	9,36

Tabela 22 Atividade de invertase neutra (IN) ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ Proteína h^{-1}) dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Tratamento	Folhas	Repetições		
		R1	R2	R3
+K	F5	11,42	10,55	10,82
	F1	13,71	15,24	16,77
-K	F5	25,40	24,29	24,95
	F1	12,78	15,73	14,25
Rec	F5	10,58	11,72	11,83
	F1	8,26	5,23	7,26

Tabela 23 Conteúdo de clorofila a (mg g^{-1} MS), clorofila b (mg g^{-1} MS), carotenóides totais (mg g^{-1} MS) e clorofilas totais (mg g^{-1} MS) em folhas F1 e F5 dos tratamentos de controle (+K), deficiência (-K) e recuperação de K^+ (Rec).

Pigmento	Tratamento	Folhas	Repetições		
			R1	R2	R3
Clorofila a	+K	F5	5,74	5,92	6,10
		F1	5,86	5,86	5,85
	-K	F5	4,16	4,09	4,13
		F1	4,08	4,93	4,51
	Rec	F5	3,73	3,07	3,43
		F1	3,75	3,48	3,21
Clorofila b	+K	F5	1,99	2,10	2,09
		F1	2,55	2,39	2,27
	-K	F5	5,96	5,85	6,30
		F1	5,45	4,42	5,50
	Rec	F5	1,69	1,15	1,49
		F1	1,83	1,12	1,53
Carotenóides Totais	+K	F5	7,42	8,46	8,70
		F1	8,29	8,25	8,08
	-K	F5	16,55	15,60	16,98
		F1	15,88	12,80	14,34
	Rec	F5	5,66	4,15	4,91
		F1	5,42	4,48	4,71
Clorofilas Totais	+K	F5	5,89	7,02	7,18
		F1	7,36	7,22	7,11
	-K	F5	5,24	5,11	5,10
		F1	5,28	6,16	5,25
	Rec	F5	4,74	3,26	4,30
		F1	4,88	3,85	4,14

APÊNDICE B – FOTOS DO EXPERIMENTO

Figura 18 Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação. 11º dia de tratamento, na casa de vegetação em 22/12/2015 (de A a D); 14º dia de tratamento, na câmara de crescimento em 25/12/2015 (E); 17º dia de tratamento, na câmara de crescimento em 28/12/2015 (F).

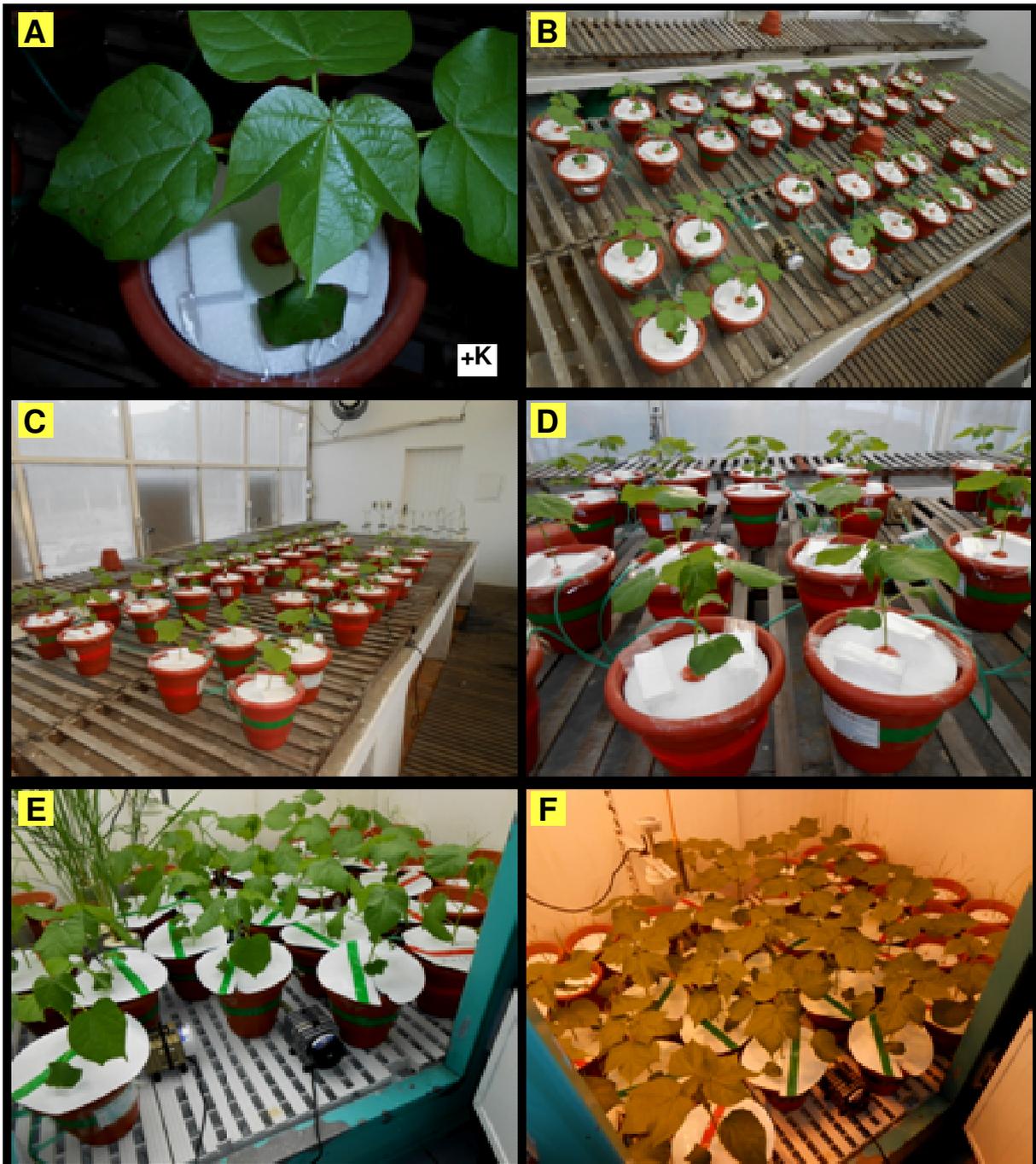


Figura 19 Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação. 20º dia de tratamento, na câmara de crescimento em 31/12/2015 (A e B); Plantas +K (esq.) e -K (dir.), na câmara de crescimento em 01/01/2016 (C); Plantas +K (esq.) e Rec (dir.), na câmara de crescimento em 06/01/2016 (D); sementes de algodoeiro cv. FM 910 em processo de embebição durante 1 hora em H_2O_{dd} , na casa de vegetação em 04/12/2015 (E); plântulas de algodoeiro crescendo em substrato arenoso, na casa de vegetação em 10/12/2015 (F).

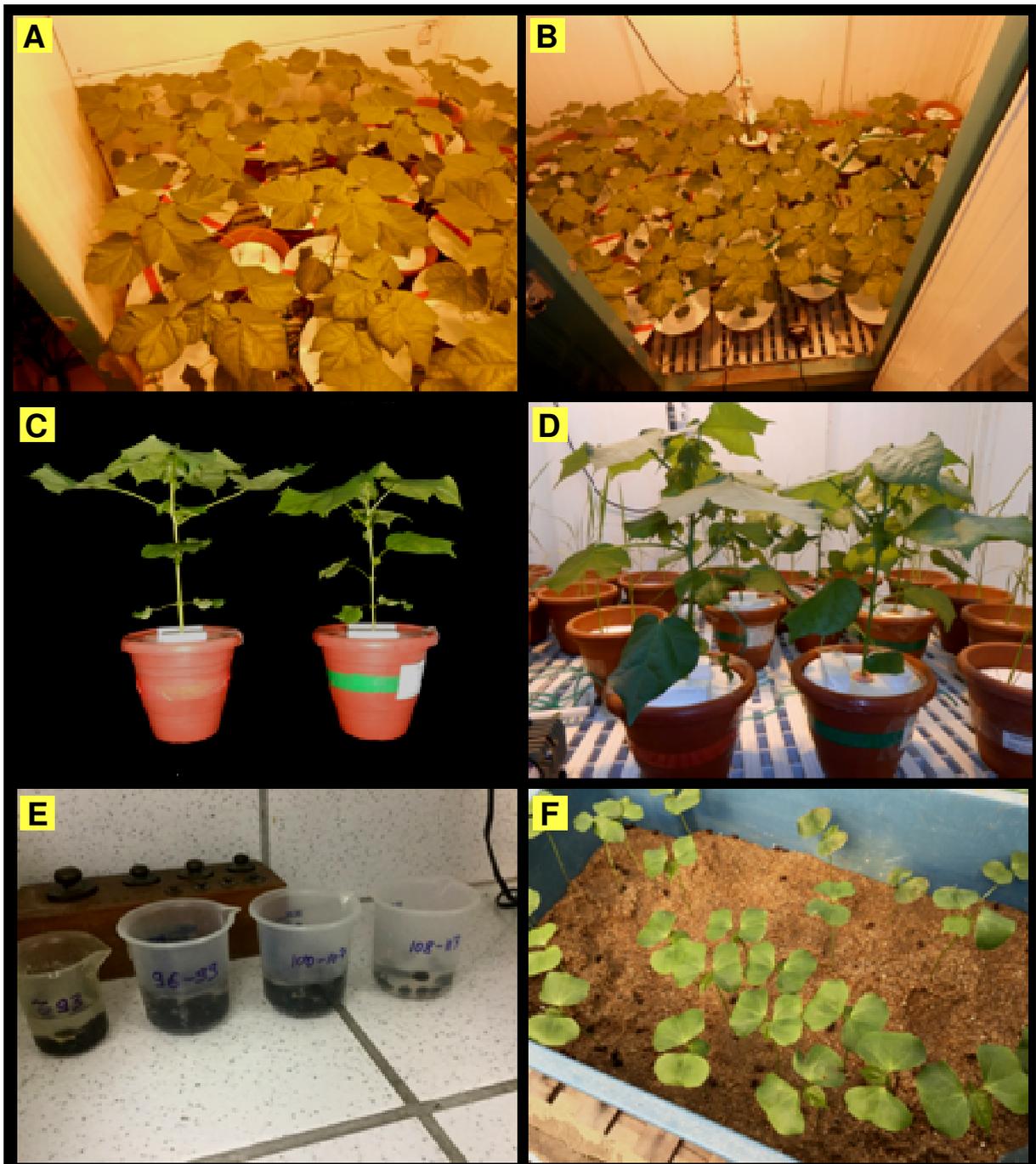


Figura 20 Fotos do experimento envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio, fotossíntese e metabolismo de açúcares em folhas de diferentes idades, e submetidas a uma recuperação. Folhas F1 a F6 em tratamentos +K (esq.) e -K (dir.), na câmara de crescimento em 03/01/2016 (de A a F, respectivamente).



Figura 21 Fotos de experimentos prévios ao experimento final envolvendo avaliações de deficiência mineral de potássio em plantas de algodoeiro cv. FM 910. Vista externa da casa de vegetação do LabPlant (A); Experimento prévio ao experimento final (B); Vista externa panorâmica da casa de vegetação (C); Planta em solução controle em crescimento (D); Plantas em solução controle no período noturno em crescimento (E); Plantas com sintomas visuais avançados de deficiência de potássio, em solução com 0,03 mM de potássio (F e G).

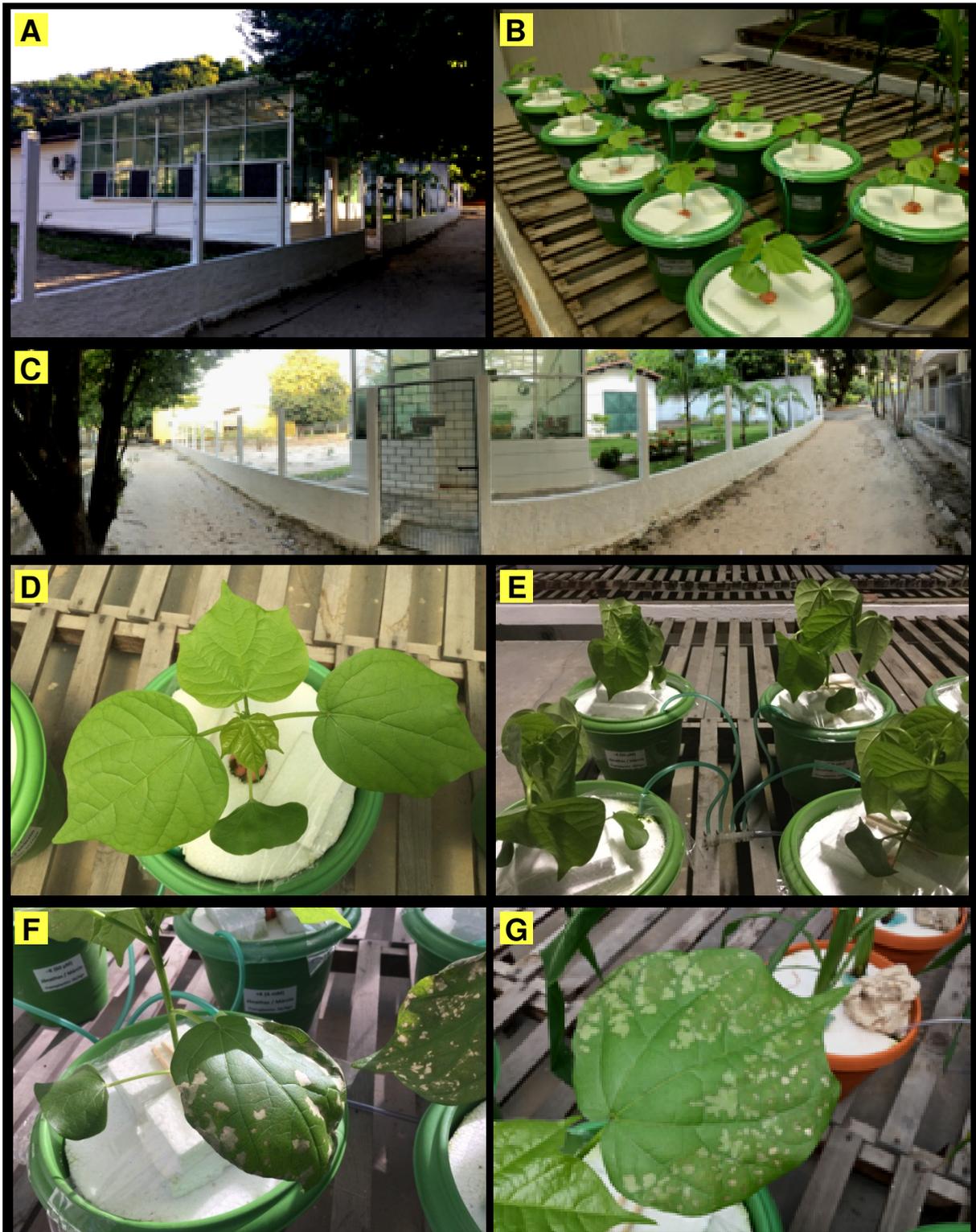


Figura 22 Fotos do trabalho apresentado no “XV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal”, evento realizado em Foz do Iguaçu/PR, Brasil, no período de 28/09 a 02/10/2015, com o título: “Potassium deficiency induces CO₂ assimilation reduction through negative modulation of Rubisco in cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.)”. Banner apresentado no evento (A); Panorama das Cataratas do Iguaçu (B); Palestras apresentadas no auditório do evento (C); Panorama das Cataratas do Iguaçu (D e E).



Figura 23 Banner apresentado no “XV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal”, evento realizado em Foz do Iguaçu/PR, Brasil, no período de 28/09 a 02/10/2015, com o título: “Potassium deficiency induces CO₂ assimilation reduction through negative modulation of RuBisCO in cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.)”.



Potassium deficiency induces CO₂ assimilation reduction through negative modulation of RuBisCO in cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.)



Melo, JS¹; Martins, MO¹; Guilherme, EA¹; Silveira, JAG¹

¹Federal University of Ceara; msjonathas@gmail.com

Introduction

Potassium (K⁺) is an essential macronutrient for plants growth and development, and plays an important role in a wide range of physiological processes, such as the stomatal opening, photosynthesis and related processes. The K⁺ deprivation in agricultural soils worldwide can lead to inevitable K⁺ deficiency in plants. In this work, we investigated the effects of K⁺ deficiency on CO₂ assimilation and photochemical activity of photosystem II utilizing cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.) as a model which has high requirement for K⁺.

Material and Methods

Sowing and Transplanting

Half-strength Hoagland's solution 2.8 L

Experimental design completely randomized

Treatments:



+K (4.0 mM)



-K (0.03 mM)

Sampling - 32 days after sowing

Measurements and Assays

Gas exchange

Chlorophyll a fluorescence

K⁺ content

Relative Water Content (RWC)

Electrolyte leakage

Soluble Protein

Malondialdehyde (MDA) content

Greenhouse conditions:

Air temperature	24 °C (minimum) 32 °C (maximum)
Air relative humidity	85%
Maximum PPFD	1200 μmol m ⁻² s ⁻¹
Photoperiod	12 h

Results



Figure 1 *G. hirsutum* L. plants grown in full-nutritive solution (+K) or K⁺-deficient (-K).



Figure 2 *G. hirsutum* L. plants roots and leaves grown in full-nutritive solution (+K) or K⁺-deficient (-K).

	Le (%)	Lo (%)
+K	25.88 ± 0.64	-
-K	18.84 ± 0.17	21.85 ± 0.15

Table 1 Stomatal (Le) and total leaf (Lo) conductance in *G. hirsutum* L. plants leaves and roots grown in solution +K or -K.

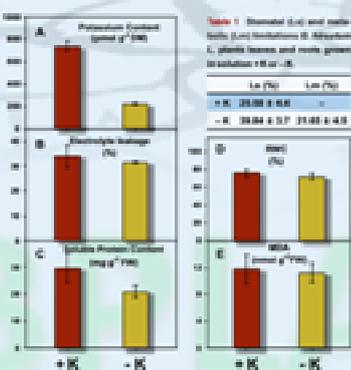


Figure 3 K⁺ content, electrolyte leakage, RWC, soluble protein and MDA content in leaves of *G. hirsutum* L. plants in full-nutritive solution (+K) or K⁺-deficient (-K).

Table 2 Parameters calculated from P_n/C_i curves in leaves of *G. hirsutum* L. plants in full-nutritive solution (+K) or K⁺-deficient (-K).

(μmol m ⁻² s ⁻¹)	+K	-K
V _{cmax}	176.1 ± 26.8	162.5 ± 16.2
J _{max}	121.4 ± 2.8	137.7 ± 9.7
TPU	8.1 ± 0.2	10.2 ± 0.3
R _d	1.8 ± 0.5	3.1 ± 0.4

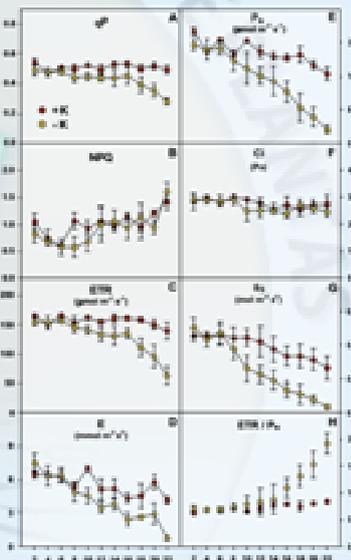


Figure 4 Chlorophyll a fluorescence and gas exchange parameters in leaves of *G. hirsutum* L. plants in full-nutritive solution (+K) or K⁺-deficient (-K).

Conclusion

K⁺ deficiency induces impairment in photosynthesis. This effect is more closely associated to reduction in both CO₂ assimilation and in vivo RuBisCO activity than in PSII activity.

Acknowledgments