



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS

JONES BATISTA VIDAL

**CRESCIMENTO REDUZIDO DE PLANTAS DE MILHO DEFICIENTES EM
POTÁSSIO NÃO ESTÁ DIRETAMENTE LIGADO A QUEDA NA ATIVIDADE
FOTOSSINTÉTICA.**

FORTALEZA

2015

JONES BATISTA VIDAL

**CRESCIMENTO REDUZIDO DE PLANTAS DE MILHO DEFICIENTES EM
POTÁSSIO NÃO ESTÁ DIRETAMENTE LIGADO A QUEDA NA ATIVIDADE
FOTOSSINTÉTICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Solos e Nutrição de Plantas.

Orientador:
Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da
Silveira

FORTALEZA

2015

Página reservada para ficha catalográfica que deve ser confeccionada após
apresentação e alterações sugeridas pela banca examinadora.

JONES BATISTA VIDAL

**CRESCIMENTO REDUZIDO DE PLANTAS DE MILHO DEFICIENTES EM
POTÁSSIO NÃO ESTÁ DIRETAMENTE LIGADO A QUEDA NA ATIVIDADE
FOTOSSINTÉTICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Solos e Nutrição de Plantas.

Orientador:
Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da
Silveira

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

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

Dr. Milton Costa Lima Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Rafael Magalhães de Aragão
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira, por ter acreditado no meu potencial, aceitando me orientar durante o mestrado, oferecendo todo o suporte técnico, conselhos e todo tipo de contribuição para esta importante etapa da minha formação profissional.

Aos Drs. Marcio de Oliveira Martins, Milton Costa Lima Neto e Rafael Magalhães de Aragão, pela aceitação do convite para participar da banca examinadora e pelas valiosas contribuições neste trabalho, tanto na obtenção de dados quanto nas discussões.

Aos grandes amigos, Yugo Lima Melo e Jordânia Gabriel, pelo apoio fundamental na elaboração desta dissertação.

Aos integrantes e ex-integrantes do LABPLANT, Adilton, Amnon, Ana Karla, Cinthya, Cris, Emiliano, Evandro, Fabrício, Girlaine, Glaydson, Jamyla, João Victor, Jones, Juliana, Lara, Marcio, Milton, Petterson, Rachel, Rafael, Sérgio, Matheus, Lorena e Tathi, pelos auxílios oferecidos sempre que solicitados.

Aos professores do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, por terem feito parte da minha formação, direta ou indiretamente.

Aos funcionários do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas e da coordenação da Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da UFC.

Ao coordenador da Pós-Graduação, Prof. Dr. Raimundo Nonato de Assis Jr.

Aos integrantes e ex-integrantes do LABFIVE (UFC), aos quais tenho enorme carinho e consideração, por terem participado da minha formação inicial de pesquisador.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Acima de tudo, aos meus familiares e, em especial, a minha mãe, Ana e Sandra Rafaela, pelo o amor e carinho despendido à mim.

Muito obrigado!

RESUMO

Como a deficiência de potássio afeta a fotossíntese das plantas com metabolismo C4 é ainda um tópico aberto à discussão, sendo os mecanismos por trás das limitações impostas pela falta deste nutriente ainda não muito bem compreendidos. Foram examinadas as respostas de plantas de milho (*Zea mays* L.) a deficiência de potássio. Medidas de trocas gasosas ao longo do tempo, análises ligadas a atividade fotoquímicas dos fotossistemas I e II, concentração de K, carboidratos e proteínas solúveis nos tecidos, conteúdo relativo de água, potencial osmótico de folhas e raízes e parâmetros de crescimento das plantas foram realizadas. As plantas foram cultivadas em hidroponia, em condição de casa de vegetação. Cultivou-se as plantas até o estágio V3 de desenvolvimento do milho, em solução de Hoagland e Arnon modificada, onde a partir deste estágio houve a diferenciação das condições de cultivo. Os tratamentos experimentais consistiram de duas doses diferentes de potássio (6.0 e ≈ 0.03 mM) em solução nutritiva. O cultivar de milho utilizado no experimento foi o cv. BR 5011 "Sertanejo". Os resultados mostraram que as plantas de milho submetidas a deficiência de potássio apresentaram crescimento mais lento que as plantas cultivadas em condição normal. A massa fresca das plantas deficientes foi 59% menor em comparação as plantas nutridas em K ($P < 0.05$), apesar da taxa de emissão de folhas e número total de folhas não ter sido diferente. Ainda, o conteúdo relativo de água foi 16% menor nas plantas deficientes. Somente foi observada redução significativa ($P < 0.05$) nos parâmetros de trocas gasosas das plantas após 18 dias de cultivo na solução - K, sendo esta redução agravada aos 20 dias. Neste ponto, as plantas apresentavam concentração de potássio nas folhas abaixo da crítica reportada na literatura para milho (0.75% de K na matéria seca), onde ocorre redução severa da assimilação de CO₂. Os parâmetros de fluorescência da clorofila (Y(II), ETR(II) e NPQ) e absorvância do P700 (Y(I), Y(ND) e Y(NA)) também sofreram alterações devido a deficiência de K, indicando limitações na fotoquímica das plantas. Os resultados indicam que a redução da fotossíntese de milho durante a deficiência de potássio é de cunho metabólico. Ainda, o menor crescimento das plantas deficientes deve estar atrelado à influência do K na capacidade da planta de manter a pressão de turgor ideal para a expansão celular nos tecidos em crescimento durante o período do stress, uma vez que, neste experimento, as plantas tiveram seu

crescimento já afetado nos primeiros dias de privação de K^+ , somente apresentando, porém, redução na atividade fotossintética aos 18 dias de cultivo.

Palavras-chave: Potássio, Fotossíntese, *Zea mays* (L.), Metabolismo C4 da fotossíntese, Crescimento Vegetativo

ABSTRACT

How the deficiency of potassium affects the photosynthesis of C4 plants still unclear, being the mechanisms behind the limitations imposed by the privation of this nutrient not well understood. This study aimed to elucidate how the potassium deficiency affects the photosynthesis of maize plants. To achieve that, accesses of gas exchange, chlorophyll fluorescence, absorbance of P700, carbohydrates, K content, water relative content, osmotic potential of roots and leaves and growth parameters were carried out. The experiments were conducted in greenhouse condition. A hydroponic medium was used to sustain the plants growth; it consisted of a modified Hoagland and Arnon hydroponic solution, in which the plants stayed until the expansion of the third leaf. After that, the treatments were implanted. The treatment consisted of two distinct solutions with different K concentrations: a K sufficient solution, with 6 mM K (+K) and a K absent solution, with ≈ 0.03 mM (-K). The maize cv. utilized in this study was the BR5011. The results showed that maize plants subjected to K deficiency had reduced growth in comparison to +K plants. The fresh weight of the -K plants was reduced by 59%, besides the leaf emission rate and the total leaf number were not affected. In addition, the relative water content was 16% lower in -K plants. Significant changes to gas exchange parameters was only achieved at 18 days of treatment (DAT) of K privation. At this point, the plants already showed a severe reduction in growth, and the concentration of K in leaves was below the critical level found in the literature. The parameters of chlorophyll fluorescence and P700 absorbance also suffered from K deficiency, but only 18 DAT. Together, the data suggests that the reduced growth of -K plants was probably due to K deficiency negative influencing the capacity of the plant to maintain the turgor pressure inside the growing tissues. In addition, the limitations to photosynthesis found here must be related to metabolic limitations. The limited growth of -K plants must not be linked to reduction in the photosynthesis rate, due to plants be already presenting stunted growth even when photosynthesis was not yet affected by K deficiency.

Keywords: Potassium, photosynthesis, *Zea mays* (L.), C4 metabolism, plant growth.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação da via da fotossíntese C4 dependente da NADP-ME. CA = anidrase carbônica**23**
- Figura 2** - Aspecto visual da (A) parte aérea, (B) raízes, (C) das folhas e (D) colmos de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condição normal de cultivo (+K) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (-K).**32**
- Figura 3** - Representação gráfica do particionamento da matéria fresca de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (A) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (B).**34**
- Figura 4 - Figura 4** – Conteúdo de potássio em folhas e raízes de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (barras cinzas) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (barras brancas).**35**
- Figura 5** - Potencial osmótico (A), carboidratos solúveis totais (B) e danos de membrana (C) em folhas e raízes de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (barras cinza) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (barras brancas).**36**
- Figura 6** – Fotossíntese líquida (A), eficiência quântica do fotossistema II (B), condutância estomática (C), transpiração (D), concentração de CO₂ intracelular (E), rendimento quântico máximo do fotossistema II (F) de plantas jovens de milho cv. BR5011 em condições normais de cultivo (círculos cinza) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (círculos brancos).**37**
- Figura 7** – Curvas de reposta da fotossíntese (P_N) a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (círculos cinzas) e submetidas a deficiência de potássio (círculos brancos) por 20 dias.....**39**

Figura 8 – Resposta da fotossíntese (P_N) à concentração intracelular de CO_2 (C_i) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (círculos cinzas) e submetidas a deficiência de potássio (círculos brancos).

.....**41**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa fresca (MF) das folhas, colmo, raízes e total, diâmetro do colmo e conteúdo relativo de água (CRA) de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade submetidas a deficiência de potássio^a por 20 dias.....**34**

Tabela 2 - Fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência do uso da água na fotossíntese (P_N/E), concentração de CO_2 no mesófilo (C_i), relação entre o transporte aparente de elétrons e assimilação de CO_2 ($ETR(II)/P_N$) em plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias**39**

Tabela 3 - Fotossíntese máxima (P_{Nmax}), respiração no escuro (R_d), ponto de compensação de luz e limitações metabólica e estomática (L_m e L_s , respectivamente) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio.....**40**

Tabela 4 - Rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m), eficiência quântica do PSII ($Y(II)$), taxa de transporte de elétrons do PSII ($ETR(II)$) e quenching não fotoquímico de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias**41**

Tabela 5 - Sinal máximo do P700 adaptado ao escuro (P_m), eficiência quântica do PSI ($Y(I)$), taxa de transporte de elétrons do PSI ($ETR(I)$), rendimento quântico não fotoquímico relacionado ao lado doador do PSI ($Y(ND)$), rendimento quântico não fotoquímico relacionado ao lado acceptor do PSI ($Y(NA)$) e fluxo cíclico de elétrons ($CEF = ETR(I)/ETR(II)$) em plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias.**42**

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 O Potássio: aspectos gerais e agronômicos	16
2.2 Absorção e transporte de K.....	17
2.3 K e fotossíntese.....	19
2.4 Fotossíntese C4	21
2.5 K na ativação enzimática.....	23
2.6 Papel do K nos movimentos das plantas.....	24
2.7 O milho	26
3 HIPÓTESE E OBJETIVOS	27
3.1 Hipótese	27
3.2 Objetivo Geral	27
3.3 Objetivos específicos.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Condução dos experimentos, material vegetal e aplicação dos tratamentos ...	28
4.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a	28
4.3 Curvas de resposta da fotossíntese ao CO ₂ (A-Ci)	29
4.4 Conteúdo relativo de água (CRA) e dano de membrana.....	30
4.5 Determinação do conteúdo de carboidratos e K	30
4.6 Atividade do PSI e fluorescência da clorofila a ao final do experimento	31
5 RESULTADOS	32
5.1 Crescimento das plantas	32
5.2 Conteúdo de potássio, carboidratos solúveis, potencial osmótico e danos de membrana	34
5.3 Trocas gasosas, eficiência e rendimento quântico do PSII ao longo do tempo	36
5.4 Trocas gasosas, curvas de resposta da fotossíntese a luz e a concentração de CO ₂ intracelular	38
5.5 Parâmetros da análise da fluorescência da clorofila e absorbância do P700...	40
6 DISCUSSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1 INTRODUÇÃO

O potássio (K) é um macronutriente essencial para plantas, desempenhando papéis importantes no crescimento e desenvolvimento do vegetal, sendo absorvido pelos vegetais na sua forma iônica K^+ (LEIGH e WYN JONES, 1984; MARSCHNER, 1995; SCHACHTMAN e SHIN, 2007; WANG e WU, 2013). É o cátion mais abundante presente nas plantas e participa direta ou indiretamente de vários processos fisiológicos, como o mecanismo de abertura e fechamento estomático, manutenção da homeostase iônica e ativação de diversas enzimas (PETTIGREW 2008). A absorção deste cátion pelas raízes das plantas se dá, de forma semelhante a absorção do nitrato, por dois sistemas cinéticos distintos (EPSTEIN et al., 1963). O sistema de alta afinidade possui afinidade aparente para o K^+ de 4-35 μM e opera a concentrações baixas de potássio, geralmente em torno de 0.1 mM K^+ (EPSTEIN et al., 1963; MAATHUIS e SANDERS, 1994), saturando a concentrações em torno de 0.3 mM de K externo, sendo o transporte de K nesse sistema mediado por transportadores. O sistema de baixa afinidade, o qual apresenta K_m em torno de 3-19 mM, operando quando a concentração de K^+ no meio externo atinge valores superiores a 1 mM K^+ (MAATHUIS e SANDERS, 1994), com o transporte sendo carregado por canais de K^+ .

Sendo superado apenas pelo nitrogênio, quando se fala de concentração nos tecidos e absorção pelas raízes de macronutrientes, o K é um dos nutrientes mais limitantes para a produção vegetal. O íon K^+ não é incorporado na matéria orgânica, mas é o cátion mais comum nos processos bioquímicos das plantas, atuando como ativador ou cofator de várias enzimas (MARSCHNER, 1995). O K^+ é encontrado desempenhando funções essenciais na transferência energética, síntese proteica, metabolismo de carboidratos, transporte de açúcares de tecidos fonte para drenos, produção e acúmulo de óleos (RÖMHELD e KIRKBY, 2010), além de atuar em importantes processos de movimentos das plantas, como a abertura e fechamento estomáticos, sendo o rápido acúmulo e liberação de K^+ , ânions orgânicos e inorgânicos pelas células guarda, o mecanismo que controla a abertura estomática e, portanto, as trocas gasosas e transpiração das plantas (ASSMANN e SHIMAZAKI, 1999; SCHROEDER et al., 2001; ROELFSEMA e HEDRICH, 2005; ZAIDA et al., 2014).

Apesar de não ser constituinte de nenhum composto orgânico, não sendo assimilado pelas plantas, a deficiência de K^+ impacta severamente o metabolismo vegetal. As respostas das plantas a subnutrição de K^+ estão bem documentadas na literatura, porém os mecanismos fisiológicos por trás destas mudanças não são muito bem entendidos (ASHLEY et al., 2006). A deficiência de K^+ está geralmente associada com o decréscimo das taxas de transpiração, e a maioria dos estudos que atribui o fechamento estomático com a deficiência de K^+ tendem a focar o uso de plantas em estádios avançados de deficiência nutricional (THIEL e WOLF, 1997; RÖMHELD e KIRKBY, 2010). Um sintoma típico da deficiência é a murcha das plantas quando expostas a tempos secos por períodos prolongados, devido principalmente a redução no conteúdo relativo de água das mesmas.

O papel do potássio na produção agrícola está intimamente conectado com a fotossíntese (JIN et al., 2011). O K^+ afeta a fotossíntese de diversas formas, influenciando a síntese de ATP, a ativação de algumas enzimas envolvidas na assimilação de CO_2 , o balanço de cargas elétricas requeridas para a fosforilação nos cloroplastos e atuando como contra íon no transporte de H^+ através da membrana do tilacóide induzido pela luz (MARSCHNER, 2012). Vários autores sugerem que a atividade fotossintética das plantas superiores muda consideravelmente em resposta a diferentes concentrações de K^+ no meio de cultivo (BEDNARZ et al., 1998; ZHAO et al., 2001; BASILE et al., 2003; WENG et al., 2007; GERARDEAUX et al., 2009) no entanto, os mecanismos pelo qual o K^+ limita a fotossíntese de diferentes espécies ainda não são bem entendidos.

Aqui está proposto que a deficiência de K afeta o crescimento de plantas de milho através da redução no transporte de fotoassimilados das regiões produtoras para os tecidos em crescimento. Além disso, a deficiência de K afeta negativamente o status hídrico das plantas de milho, levando a queda na pressão hidrostática no interior das células, reduzindo drasticamente a taxa de crescimento das mesmas, levando as plantas a apresentarem crescimento reduzido em comparação as plantas não deficientes, mesmo que não haja queda na fotossíntese das plantas deficientes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Potássio: aspectos gerais e agronômicos

O potássio (K) é um macronutriente essencial para as plantas, chegando a constituir até 10% da sua matéria seca. O potássio desempenha papel importante no controle da homeostase iônica, osmoregulação, metabolismo proteico, atividade enzimática, polarização de membranas, e vários processos metabólicos (HASTINGS e GUTKNECHT, 1978; WALKER et al., 1996; AMTMANN et al., 2006; SCHACHTMAN e SHIN, 2007).

Sendo constituinte de cerca de 2.1-2.3% da crosta terrestre, o K está entre os elementos mais abundantes do planeta, sendo o sétimo ou oitavo nesta escala (SCHROEDER, 1978; WEDEPOHL, 1995). Sendo assim, espera-se que as reservas de K sejam numerosas. No entanto, grandes áreas agrícolas do mundo são apontadas como deficientes em K disponível para as plantas, as quais incluem 3/4 dos solos inundados da China, e 2/3 dos solos que compõem o cinturão do trigo na Austrália (MENGEL e KIRKBY, 2001; RÖMHELD e KIRKBY, 2010). A maior parte dos solos deficientes em potássio são arenosos, inundados, salinos ou ácidos. Além disso, em sistemas agrícolas de produção intensiva o K tem se tornado um elemento limitante, principalmente em solos de textura mais grosseira. Isso se deve, muitas vezes, devido a menor aplicação de fertilizantes potássicos no contexto de uma adubação desbalanceada. Em comparação ao nitrogênio e o fósforo, fertilizantes potássicos são aplicados em frequências menores, fazendo com que menos de 50% do potássio consumido pelas culturas seja repostado (SMIL, 1999). Análises do balanço de nutrientes em seis países Asiáticos, de 1961 à 1998 revelaram um déficit anual de K no solo de cerca de 11 Mt, 250% mais do que o atual consumo de fertilizantes potássicos (SYERS et al., 2001).

Solos minerais contêm de 0.004 à 3% de K, sendo o conteúdo da faixa de solo agricultável (0-20 cm) de 10 a 20 g kg⁻¹ (SPARKS, 1987). A disponibilidade de K difere grandemente com o tipo de solo, sendo afetada pelas características físico-químicas deste. O K no solo é classificado, geralmente, em quatro grupos, dependendo da sua disponibilidade para as plantas: dissolvido na solução do solo, trocável, não trocável e em forma estrutural (SPARKS e HUANG, 1985). O K dissolvido na solução do solo está diretamente disponível para as plantas e

microrganismos, e potencialmente susceptível a lixiviação. O K trocável está ligado eletrostaticamente na esfera exterior dos minerais de argila e substâncias húmicas presentes no solo (BARRE et al., 2008). Estas duas frações estão disponíveis às plantas. No entanto, este *pool* de K é geralmente pequeno, constituindo cerca de 0.1 à 0.2% e 1 à 2%, respectivamente, do pool total de K no solo (SPARKS, 1987). K não trocável e estrutural são considerados formas não disponíveis ou disponíveis a longo prazo (PAL et al., 2001). A disponibilidade ou não do K nos solos vai variar de acordo com as propriedades físicas e químicas de determinado solo, além da atividade microbiana do mesmo, a qual afeta a fixação e liberação do K no solo (ZÖRB et al., 2014).

Na agricultura intensiva, a aplicação de fertilizantes é obrigatória em prol de assegurar e sustentar o suprimento adequado de K para as culturas. Em 2011 a demanda mundial por fertilizantes potássicos era de cerca de 23.8 Mt de K, figurando o Brasil como um dos maiores consumidores mundiais de adubos potássicos (cerca de 13% do consumo mundial) (FAO, 2011). Em 2015, espera-se que este consumo aumente para 27.1 Mt de K, sendo este aumento devido a atual projeção de crescimento de diversos países em desenvolvimento, os quais devem aumentar drasticamente o seu consumo de fertilizantes em um futuro próximo (FAO, 2011; ZÖRB et al., 2014). Os principais fertilizantes potássicos são o cloreto de potássio (KCl), sulfato de potássio (K_2SO_4) e nitrato de potássio (KNO_3), sendo o KCl o mais utilizado por ser o mais economicamente viável. Fertilizantes orgânicos (esterco animal, vinhaça, restos de alimentos, lodo, etc.) são, também, importantes fontes de K para a agricultura (ZÖRB et al., 2014).

2.2 Absorção e transporte de K

O K^+ é o cátion essencial mais abundante nas células vegetais, com uma concentração média de aproximadamente 100 mM no citosol e 10-200 mM no vacúolo (LEIGH e WYN JONES, 1984; VOELKER et al., 2006; WANG e WU, 2013). O K^+ está envolvido em vários aspectos da fisiologia e metabolismo da célula, incluindo a expansão celular, ativação enzimática, abertura e fechamento estomático e manutenção da pressão de turgor. Este também desempenha um papel importante no transporte de solutos através do floema. O íon K^+ é requerido no movimento de sacarose das folhas para as raízes e drenos, como frutos, folhas em desenvolvimento

e botões florais (WHITE e KARLEY, 2010). Plantas superiores utilizam dois sistemas, com diferentes afinidades, para a absorção de K, similar ao que ocorre com o nitrogênio (EPSTEIN et al., 1963). As plantas absorvem K através do sistema de baixa afinidade, no qual canais de K⁺ do tipo *shaker* desempenham o papel principal no transporte de K para o interior da célula, quando as concentrações de K no solo são maiores que 100 µM (ADAM e SHIN, 2014). Em *Arabidopsis*, um canal retificador do tipo shaker, AKT1, do inglês “ARABIDOPSIS K⁺ TRANSPORTER1”, o qual é expresso na membrana plasmática de células da epiderme da raiz, desempenha o papel principal no sistema de absorção de K⁺ de baixa afinidade, transportando o K⁺ do exterior para o interior da célula (HIRSCH et al., 1998; ROS et al., 1999; SPALDING et al., 1999). O AKT1 é regulado pela AtKC1, uma α-subunidade cujo o gene é fortemente expresso nas raízes (REINTANZ et al., 2002) e regulado positivamente por privação de K (SHIN e SCHACHTMAN, 2004) e estresse salino nas folhas (PILOT et al., 2003).

Em contraste com o sistema de absorção de K⁺ de baixa afinidade, o sistema de alta afinidade está ativo somente quando a disponibilidade de K é baixa (menor que 100 µM), sendo composto por transportadores dependentes de potencial eletroquímico (MAATHUIS e SANDERS, 1992; GRABOV, 2007; BRITTO e KRONZUCKER, 2008). Os transportadores H⁺:K⁺ do tipo simporte do tipo KT/KUP/HAK, desempenham os principais papéis no transporte de alta afinidade de K em plantas superiores (GRABOV, 2007). O transportador HvHAK1 do trigo foi um dos primeiros transportadores de K⁺ do tipo KT/KUP/HAK identificados em plantas, tendo a sua expressão induzida por privação de K (SANTA-MARIA et al., 1997; SHIN, 2010). Um grande número de genes relacionados a transportadores KT/KUP/HAK são geralmente encontrados no genoma de vegetais superiores (BANUELOS et al., 2002). Existem 13 membros identificados em *Arabidopsis* e 27 membros em arroz, sendo estes membros classificados em quatro clusters diferentes (RUBIO et al., 2000; BANUELOS et al., 2002). Os membros mais estudados da família KT/KUP/HAK pertencem aos dois maiores grupos, os quais foram nomeados *Clusters* I e II (BANUELOS et al., 2002). Todos os transportadores pertencentes ao *Cluster* I caracterizados até esta data estão associados a absorção e transporte de potássio de alta afinidade (BANUELOS et al., 2002; RODRIGUEZ-NAVARRO e RUBIO, 2006). O transportador HAK5, o qual pertence ao *Cluster* I, ortólogo do HAK1, é um dos poucos transportadores da família KT/KUP/HAK cuja expressão é induzida por deficiência de

K^+ e reduzida quando os níveis de K^+ voltam ao normal (AHN et al., 2004; QI et al., 2008). Os transportadores da família KT/KUP/HAK são diferentes dos transportadores do tipo *shaker* por não conseguirem discriminar prontamente os íons pertencentes ao grupo I de álcalis metálicos, como o sódio (Na^+), rubídio e céσιο (SHIN, 2014). Ainda, o transporte de K^+ mediado por transportadores da família KT/KUP/HAK é bloqueado por amônio (QI et al., 2008; SZCZERBA et al., 2008).

Além dos transportadores do tipo *shaker* e transportadores da família KT/KUP/HAK, outras proteínas de membrana têm sido reportadas por desempenhar um papel no transporte de K. Os HKTs, do inglês HIGH-AFFINITY K^+ TRANSPORTERS, são encontrados em todas as espécies vegetais (CORRATGE-FAILLIE et al., 2010). Nas monocotiledôneas os HKTs estão envolvidos na absorção de K^+ e Na^+ mas nas dicotiledôneas eles funcionam apenas no transporte de Na^+ (BERTHOMIEU et al., 2003; DAVENPORT et al., 2007; GARCIADEBLAS et al., 2003; 2007).

Uma vez que a planta absorveu o K^+ do solo através dos vários canais e transportadores existentes, ainda há a necessidade do transporte deste K^+ por longas distâncias, a fim do mesmo ser distribuído na parte aérea das plantas. Vários canais de K são conhecidos por serem responsáveis por este processo. O canal retificador de potássio SKOR, do inglês STELAR K^+ OUTWARD RECTIFIER, identificado em *Arabidopsis*, desempenha papel fundamental no transporte de K^+ da região mais externa da raiz até o xilema, um processo fundamental para o transporte de K a longa distância (LIU et al., 2006). Os transportadores denominados KEAs, do inglês K^+ EFFLUX ANTIPORTERS, atuam no carregamento do K^+ no xilema (ARANDA-SICILIA et al., 2012; YAO et al., 1997). Existem vários transportadores do tipo *shaker*, identificados em *Arabidopsis*, que possuem função confirmada no movimento de K^+ através floema, sendo alguns deles: KAT1, do inglês K^+ CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA1 (SCHACHTMAN et al., 1992), KAT2 (PILOT et al., 2001), e AKT2/3, do inglês ARABIDOPSIS K^+ TRANSPORTER 2/3 (CHEREL et al., 2002; DEEKEN et al., 2002; IVASHIKINA et al., 2005).

2.3 K e fotossíntese

Em plantas superiores, o K^+ afeta a fotossíntese em vários níveis. O K^+ é o contra íon dominante no fluxo de H^+ induzido pela luz através das membranas do

tilacóide (TESTER e BLATT, 1989) e para o estabelecimento do gradiente de pH transmembranar necessário para a síntese de ATP no cloroplasto (MARSCHNER, 1995).

Para a manutenção do pH elevado no estroma, após iluminação é necessário um influxo de K do citosol para o estroma, o qual é mediado pelo “*counterflow*” de H^+/K^+ através da membrana do cloroplasto (WU et al., 1991). Sob estresse hídrico este *counterflow* é limitado, devido a necessidade de acúmulo de solutos (dentre eles o K) para o ajuste osmótico da célula (WU et al., 1991). Com a desidratação, cloroplastos isolados perdem boa parte de seu K^+ , causando a queda da fotossíntese; a recuperação desta queda é possível caso seja suprida alta concentração de potássio exógeno ao cloroplasto (PIER e BERKOWITZ, 1987).

Diferente das deficiências de nitrato e fósforo, a deficiência de K raramente resulta no acúmulo de amido, ao passo que o acúmulo de açúcares geralmente é observado em folhas deficientes em K (ZÖRB, 2014). Tal resultado tem sido atribuído ao impedimento do transporte de sacarose para fora das folhas e não à uma limitação da fotossíntese, devido ao fato de, em diversos relatos na literatura, a remoção do K do meio de cultivo não alterar as reações fotoquímicas ou a taxa fotossintética no decorrer dos experimentos (CAKMAK et al., 1994; HERMANS et al., 2006) a não ser quando associada a menores concentrações de clorofila nas folhas (ZHAO et al., 2001). O declínio da fotossíntese observado em plantas deficientes em K pode ser uma consequência deste acúmulo de sacarose, hipótese sustentada pelos perfis transcricionais de folhas de *Arabidopsis* deficientes em K (HAMPTON et al., 2006). No entanto, estudos recentes apontam que concentrações de K inferiores a 0.7-0.8% em folhas de *Carya cathayensis* parecem ter limitado a taxa de assimilação de CO_2 , sendo esta resposta atribuída a redução das condutâncias do mesófilo (g_m) e estomática (g_s) (JIN et al., 2011). No entanto, uma análise de sensibilidade mostrou que a fotossíntese foi mais sensível a taxa de carboxilação máxima da Rubisco (V_{cmax}) e a taxa de transporte de elétrons máxima (J_{max}), indicando que a taxa fotossintética é afetada primariamente por limitação em processos bioquímicos relacionados a fotossíntese, sofrendo influência da g_m e g_s posteriormente, em plantas deficientes em K (JIN et al., 2011).

Em plantas intactas, a absorção de K^+ pelas folhas é estimulada pela luz (BLUM et al., 1992). No entanto, os efeitos da deficiência de K na fotossíntese (*in planta*) de diferentes espécies vegetais encontrados na literatura são inconsistentes e

controversos (ZÖRB, 2014). Não há um consenso sobre como a deficiência de K ou seu excesso afeta a atividade fotossintética de plantas intactas. Vários trabalhos reportam que plantas supridas com níveis elevados de K mostram taxas fotossintéticas similares, diferindo apenas quando submetidas a algum tipo de estresse (SEM GUPTA, et al., 1989; TSONEV et al., 2011). Com relação aos efeitos da deficiência ou sub nutrição de K na atividade fotossintética de plantas, há uma tendência geral a acreditar que a redução taxa de assimilação de CO₂ se dá devido a diminuição dos níveis de clorofila, alteração da ultra-estrutura de cloroplastos e transporte restringido de sacarose das folhas para os tecidos drenos (ZHAO, et al., 2001; REDDY e ZHAO, 2005). Ainda não é muito claro como o K afeta a ultra-estrutura dos cloroplastos. Recentemente, evidências do requerimento de um canal de K (SynK) presente nas membranas dos tilacóides da cianobactéria *Synechocystis sp.* PCC 6803, um organismo modelo no estudo de fotossíntese, abriu um novo leque de opções para o estudo das funções do K⁺, principalmente no interior de organelas fotossinteticamente ativas (CHECCHETTO et al., 2012). Observou-se ainda que a cianobactéria mutante, com *knockout* para os genes do SynK apresentou alterações no transporte linear de elétrons e na geração do gradiente de pH transmembranar. A falta do canal não causou desorganização da membrana, mas reduziu o crescimento das colônias e modificou a relação entre fotossistemas II e I.

Em cloroplastos de plantas superiores, pelo menos um canal de K⁺ está presente, fato evidenciado pela identificação de uma proteína presente na membrana do tilacóide de cloroplastos de espinafre, com 33kDa, reconhecida por um anticorpo específico para a região do poro de canais de K⁺ (FANG e BERKOWITZ, 1995). Recentemente foi reportada a detecção do AtTPK3, do inglês TWO-PORE POTASSIUM CHANNEL 3, um canal putativo presente na membrana do tilacóide de *Arabidopsis* (ZANETTI, et al., 2010).

Até a presente data, não há uma compilação de efeitos da deficiência de potássio na fotossíntese de plantas C₄. Pouco se sabe dos efeitos deste macronutriente no metabolismo C₄, sendo os dados encontrados na literatura escassos e desatualizados.

2.4 A Fotossíntese C₄

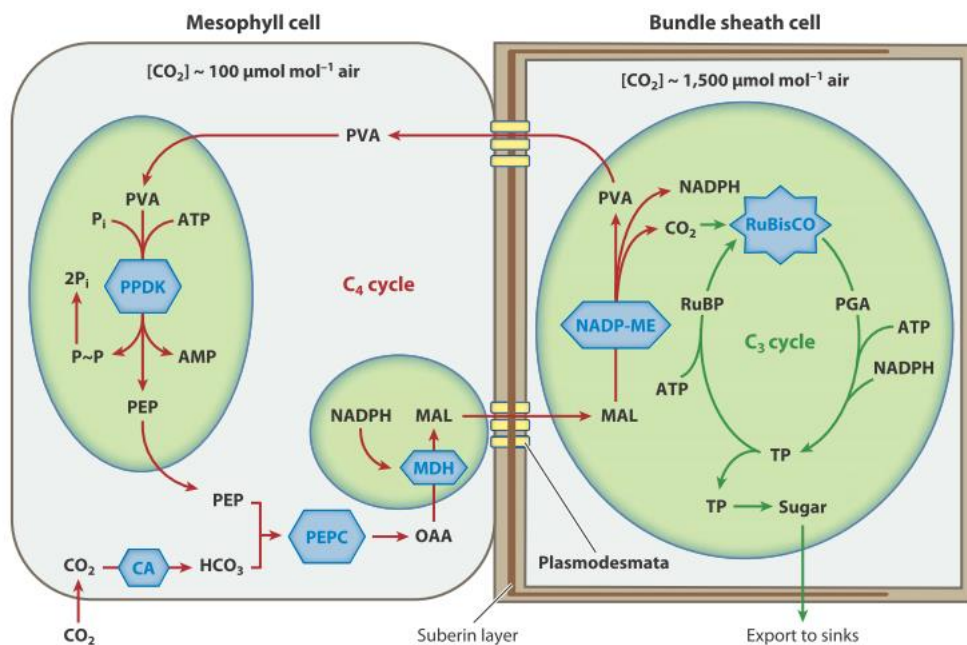
As alterações climáticas e a redução na sua concentração de CO₂ atmosférico de 1000 µmol para 200 µmol por mol de ar na Terra nos últimos 50 milhões de anos (BEERLING e ROYER, 2011; ZACHOS et al., 2008) causaram respostas evolucionárias dramáticas na fisiologia das plantas, sobretudo relacionadas à fotossíntese (FRANKS e BEERLING, 2009; GERHART e WARD, 2010). Entre as alterações mais profundas, destaca-se o surgimento de novas rotas metabólicas em consequência da baixa eficiência da fotossíntese pré-existente C₃ para essas novas condições: a fotossíntese do metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) e a fotossíntese C₄ (ARAKAKI et al., 2011; EDWARDS et al., 2010; SAGE, 2004). Esta diferencia-se pela importância na produção primária voltada para o consumo humano e pela produção primária total da Terra, correspondendo a 23% da produtividade do planeta, apesar de corresponderem a apenas 3% do número de espécies vegetais terrestres (SAGE et al., 1999; STILL et al., 2003).

A fotossíntese C₄ ocorre através de uma série de rotas metabólicas e ajustes bioquímicos e estruturais para concentrar o CO₂ em torno da Rubisco. Isso acontece por uma separação espacial das reações de fixação do carbono, que ocorrem parte nas células do mesófilo e parte nas células da bainha. Este tipo de fotossíntese é dividido em três subtipos que possuem este mesmo mecanismo de concentração de CO₂ mas com vias metabólicas um pouco diferentes: os que utilizam a enzima málica dependente de NADP (NADP-ME), a enzima málica dependente de NAD (NAD-ME) ou a carboxiquinase do fosfoenolpiruvato (PEPCK) (GOWIK e WESTHOFF, 2011). O milho inclui-se principalmente no grupo que utiliza a NADP-ME (ALVAREZ et al., 2013; SUN et al., 2012), apesar de que alguns trabalhos sugerem que o mecanismo da PEPCK também está ativo nesta espécie, com menor participação em relação ao da NADP-ME (BRÄUTIGAM et al., 2014; PICK et al., 2011; HATCH, 1971).

Na fotossíntese C₄, a etapa inicial é a fixação do carbono inorgânico pela carboxilase do fosfoenolpiruvato (PEPCase) consumindo também fosfoenolpiruvatos nas células do mesófilo, resultando na produção de ácidos de quatro carbonos, comumente oxaloacetato, que são convertidos a malatos por desidrogenases málicas. Estes ácidos de quatro carbonos são transportados para as células da bainha, onde, no subgrupo das NADP-ME, sofrem descarboxilação por estas enzimas. Com a liberação de CO₂, há um aumento da concentração de mais de dez vezes desta molécula nas células da bainha comparada às células do mesófilo, fazendo o nível de

atividade da Rubisco chegar próximo à saturação (SAGE et al., 2012; von CAEMMERER, 2000). As reações de descarboxilação também produzem ácidos de três carbonos, piruvatos, que retornam para as células do mesófilo para serem regenerados a fosfoenolpiruvato através da diquinase do piruvato fosfato, fechando o ciclo nas plantas do grupo NADP-ME (SAGE et al., 2012).

Figura 1 - Representação da via da fotossíntese C₄ dependente da NADP-ME. CA = anidrase carbônica; PEP = fosfoenolpiruvato; PEPC = carboxilase do fosfoenolpiruvato; OAA = oxaloacetato; MDH = desidrogenase do malato; MAL = malato; NADP-ME = enzima málica dependente de NADP; PGA = ácido 3-fosfoglicérico; TP = triose-fosfato; RuBP = ribulose-1,5-bifosfato; PVA = piruvato; PPDK = diquinase do piruvato fosfato.



Fonte: SAGE et al., 2012.

2.5 K na ativação enzimática

Em plantas deficientes de potássio, várias mudanças químicas ocorrem, incluindo o acúmulo de carboidratos solúveis, decréscimo no conteúdo de amido e acúmulo de compostos nitrogenados solúveis (MARSCHNER, 1995). Tais mudanças no metabolismo de carboidratos estão relacionadas tanto com a necessidade da alta concentração de K⁺ requerida por certas enzimas regulatórias, particularmente a piruvato cinase e a fosfofrutocinase (LÄUCHLI e PFLÜGER, 1978), como com o carregamento e transporte de açúcares no floema (GAJDANOWICZ, et al., 2011). A

atividade da sintase do amido é, também, altamente dependente de cátions monovalentes, sendo o potássio o mais efetivo na sua ativação (NITSOS e EVANS, 1969; PREUSSER et al., 1981).

O K^+ exerce ainda função na ativação de bombas de prótons do tipo ATPase ligadas à membrana e, em plantas deficientes em K^+ , certas hidrolases e oxidases têm sua atividade aumentada (REGGIANI et al., 1993; MARSCHNER, 1995). As enzimas que catalisam a síntese de putrescina pela arginina via agmatina são inibidas por altas concentrações de K^+ , e estimuladas em baixo pH celular (REGGIANI et al., 1993). O aumento da síntese de putrescina em plantas deficientes em K^+ pode estar relacionado com a manutenção da homeostase do pH citosólico. Essa função compensatória da putrescina foi observada em plantas deficientes em K^+ , onde as mesmas tiveram indução do crescimento e alívio dos sintomas visuais da deficiência quando supridas com putrescina exógena (TACHIMOTO et al., 1992).

2.6 Papel do K nos movimentos das plantas

Em plantas superiores, o movimento de células e órgãos está associado com o turgor celular, sendo estas mudanças associadas com a absorção e liberação de K^+ (AHMAD e MAATHUIS, 2014). Os movimentos vegetais, como por exemplo a abertura e fechamento estomático, movimentação das folhas e outros tropismos são principalmente por pressão de turgescência gerada, principalmente, por K^+ (MAATHUIS e SANDERS, 1996; PHILIPPAR et al., 1999). Aumento na concentração de K^+ nos tecidos resulta em redução do potencial osmótico e resulta na absorção de água vinda do apoplasto, resultando em maior turgidez da célula guarda e posterior abertura estomática. A luz é o sinal ambiental dominante que controla os movimentos estomático das folhas das plantas bem hidratadas crescendo em um ambiente natural (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em folhas intactas, os estômatos abrem na presença de luz vermelha, uma reação elicitada pelo decréscimo do CO_2 intracelular (C_i), devido a fixação de CO_2 realizada pelas células do mesófilo (MOTT, 1988; ASSMANN, 1999; ROELFSEMA e HEDRICH, 2005; VAVASSEUR e RAGHAVENDRA, 2005) ou por atividade dos cloroplastos das células guarda (ZEIGER et al., 2002).

Estômatos também são conhecidos por abrir em resposta a luz azul, a qual atua como um sinal. Em tais casos, a abertura estomática é iniciada pela percepção da luz por fototropinas (TOMINAGA et al., 2001; BRIGGS e CHRISTIE, 2002).

Fototropinas, as quais são proteínas cinase que atuam como receptoras da luz azul, são amplamente distribuídas no reino vegetal (DOI et al., 2006). A luz azul ativa a H⁺-ATPase da membrana plasmática através das fototropinas, criando um potencial elétrico negativo através da membrana das células guarda (KINOSHITA e SHIMAZAKI, 1999; TOMINAGA et al., 2001). A diferença de potencial elétrico faz com que K⁺ seja absorvido através de canais retificadores de K⁺ dependentes de voltagem, sendo as cargas positivas compensadas primariamente pela síntese de malato nas células guarda (DOI et al., 2006). O acúmulo de K⁺ resulta na redução do potencial hídrico e induz a absorção de água, resultando na abertura estomática (ASSMANN e SHIMAZAKI, 1999; SCHROEDER et al., 2001, ROELFSEMA e HEDRICH, 2005). O fechamento estomático é iniciado pela ativação dos canais de efluxo de cloreto e nitrato SLAC1 e SLAH3, os quais estão presentes na membrana plasmática e são regulados pela SnRK2, a proteína cinase OST1 e as proteínas cinases dependentes de Ca²⁺ CPK21 e 23 (GEIGER et al., 2009; GEIGER et al., 2010)

A atividade de canais que medeiam a liberação de K⁺ e o fechamento estomático têm sido caracterizadas no tonoplasto, incluindo as atividades de canais vacuolares rápidos, lentos e K⁺-seletivos (ISAYENKOV et al., 2010; HEDRICH, 2012). Estudos recentes evidenciaram que os transportadores de K⁺, Na⁺/H⁺ presentes no tonoplasto de células de *Arabidopsis*, NHX1 e NHX2, estão envolvidos no acúmulo de K⁺ dentro do vacúolo das células vegetais, aumentando o potencial osmóticos destas, levando a absorção de água que promove a construção da pressão de turgor necessária para a expansão e crescimento celular (BARRAGÁN et al., 2012). Existe a hipótese de que estes mesmos transportadores estariam envolvidos na regulação da transpiração das plantas, uma vez que mutantes *nhx1* e *nhx2* apresentaram aumento na perda de água via transpiração, quando comparados com plantas WT, ambas submetidos a estresse osmótico (ZAIDA et al., 2014).

Ainda com relação ao papel do K nos movimentos das plantas, várias delas organizam suas folhas em resposta a estímulos luminosos. A estes movimentos dá-se o nome de movimentos fotonásticos, tendo eles a função de aumentar a área das folhas exposta a luz ou evitar a exposição dos tecidos ao excesso de luz, de forma a evitar danos (KOLLER, 1990). Mudanças de turgor em um tecido especializado chamado pulvino causam a dilatação e a retração das células extensoras e flexoras respectivamente (MOSHELION e MORAN, 2000). O K⁺, Cl⁻ e malato são os principais solutos envolvidos nas mudanças de turgor que promovem tais movimentos.

2.7 O milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta que apresenta metabolismo C4 e pertence à família Poaceae, caracterizado como monocotiledônea, monóica, possuindo uma inflorescência masculina (pendão) e uma feminina (espiga) que, quando fecundada, dará origem ao grão de milho, classificado como fruto-semente (cariopse). Tem raízes fasciculadas, caule do tipo colmo com nós e entrenós e folhas paralelinérveas alternadas (MAGALHÃES et al., 2002) É uma espécie anual, herbácea e adaptada às mais diversas condições ecológicas (DUARTE, 2000). Seu ciclo fenológico varia de 90 a 205 dias, dependendo do genótipo e do clima. Sendo uma planta com metabolismo C4, possui uma capacidade de assimilação de CO₂ bastante eficiente, apresentando altas taxas de fotossíntese líquida, mesmo em elevados níveis de luz (TOLLENAAR; DWYER, 1999; FANCELLI, 2010).

O milho é originalmente tropical, sendo uma das mais importantes espécies cultivadas com origem nas Américas, sendo responsável por uma boa fatia do setor agrícola do Brasil. Tem a sua importância atribuída tanto a sua utilização na alimentação humana e animal, quanto na indústria de alta tecnologia. Cerca de 70% da produção mundial de milho é destinada a alimentação animal, podendo esse percentual chegar a 85% em países desenvolvidos, sendo somente 15% de toda a produção mundial destinada ao consumo humano (PAES, et al., 2006).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, perdendo apenas para Estados Unidos e China. Na safra 2013/2014, estima-se que o Brasil tenha produzido em torno de 72 milhões de toneladas do grão (USDA, 2014). Os estados brasileiros que lideram a produção de milho nacional são o Paraná, Mato Grosso e Minas Gerais (CONAB, 2014)

Depois do nitrogênio, o potássio é o elemento mais absorvido pelo milho, sendo que apenas, em média, 30% são exportados nos grãos (COELHO, 2006). Nos últimos anos, o uso de híbridos de milho de alto potencial produtivo tem permitido o uso de maior densidade de semeadura, redução do espaçamento e aumento da população de plantas por área. Atrelando isso a maior demanda dos novos híbridos por nutrientes, o uso frequente de formulações de fertilizantes com baixos teores de K têm causado grandes perdas na produção de milho (COELHO, 2006). Estima-se

que em média, para cada tonelada de milho produzida, o mesmo extraia do solo cerca de 14 kg de K. Assim, pesquisas que visem compreender como este elemento é utilizado pelas plantas de milho, a fim de aumentar a eficiência do uso deste elemento são de extrema importância.

3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

3.1 Hipótese

A queda no crescimento de plantas de milho deficientes em potássio não está diretamente associada a síntese de fotoassimilados, sendo causada pela distribuição deficiente dos mesmos e a queda na pressão de turgor das células dos tecidos em crescimento.

3.2 Objetivo geral

Elucidar mecanismos pelos quais a deficiência de K^+ afeta negativamente as trocas gasosas, o crescimento e a fotossíntese de plantas C4.

3.3 Objetivos específicos

- Caracterizar o estresse e o dano causado pela deficiência de K^+ nos tecidos de plantas de milho cv. BR 5011, avaliando fenotipicamente as plantas e medindo o extravasamento de eletrólitos, a fim de verificar o dano causado as membranas celulares;

- Avaliar as limitações impostas a fotossíntese de plantas de milho cv. BR 5011 deficientes em K^+ através de parâmetros de trocas gasosas;

- Avaliar o comportamento dos fotossistemas I e II de plantas de milho cv. BR 5011 deficientes em K^+ através de técnicas de análise da clorofila e absorvância do P700;

- Determinar o ponto crítico no qual a deficiência de K^+ é capaz de limitar a fotossíntese e o desenvolvimento de plantas de milho cv. BR 5011, avaliando o conteúdo de K nos tecidos foliares no momento onde ocorrer a queda na fotossíntese;

- Avaliar o estado hídrico de plantas de milho cv. BR 5011 deficientes em K^+ através da mensuração do conteúdo relativo de água e potencial osmótico;

- Verificar o efeito da deficiência de K^+ na síntese de carboidratos solúveis em folhas de plantas de milho cv. BR 5011 através de análises bioquímicas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Condução dos experimentos, material vegetal e aplicação dos tratamentos

Sementes de milho (*Zea mays* L.) cv. BR 5011, cedidas pela EMBRAPA Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG) foram desinfetadas superficialmente por imersão em hipoclorito de sódio 0,5% (v/v) por 10 minutos, sendo posteriormente lavadas 3 vezes com água destilada. A semeadura foi em papel tipo germitest, entre duas folhas, formando um rolo após a disposição adequada das sementes no comprimento do papel. O papel foi embebido em água na proporção 2:1 (v/p). As plântulas de milho foram transferidas para solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada após a expansão da primeira folha. Após atingirem o estágio fenológico V3 (3 folhas completamente expandidas), foram implementados os tratamentos que consistiam de plantas com nutrição adequada de K (6mM K) (+K) e plantas deficientes em K (≈ 0.03 mM K) (-K). A concentração de macronutrientes das soluções era: +K: 4 mM KNO_3 , 1 mM Mg_2SO_4 , 1 mM K_2HPO_4 , 4 mM $Ca(NO_3)_2$, 2 mM NH_4Cl ; -K: $Ca(NO_3)_2$ 5 mM, 1 mM NaH_2PO_4 , 2 mM NH_4NO_3 , 1 mM Mg_2SO_4 . Diariamente, foram realizadas análises de trocas gasosas e, quando as plantas -K apresentaram fotossíntese 50% menor que as +K, a coleta foi realizada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (+K e -K) e 3 repetições. Os dados foram submetidos ao teste T de comparação de médias.

4.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

As trocas gasosas foram avaliadas nos experimentos com um analisador de gás no infravermelho – IRGA modelo LI-6400 XT (LI-COR Inc., CA, EUA). Foram avaliadas a fotossíntese líquida (P_N), a condutância estomática (g_s), a transpiração foliar (E) e a pressão parcial de CO_2 (C_i). Para tanto, será utilizada a parte mediana da folha +1 (a folha completamente expandida mais jovem), evitando-se a nervura central. Nestas medidas, a temperatura da câmara será mantida a 28 °C, a concentração de CO_2 externa (referência) mantida a 380 ± 3 ppm e a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (PPFD) na folha mantida em $1000 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A eficiência do uso de água será calculada pela relação entre a fotossíntese líquida e a transpiração foliar (P_N/E).

Com um fluorômetro acoplado (LI-6400-40), foram avaliados parâmetros de fluorescência da clorofila *a*. Essas medidas foram realizadas por meio do método de pulso de saturação (SCHREIBER et al., 1995) nas folhas iluminadas e adaptadas ao escuro por 30 min. A intensidade e duração do pulso de saturação de luz foram de $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 0,7 s, respectivamente. A luz azul foi mantida em 10% da radiação aplicada para maximizar a abertura estomática. Os seguintes parâmetros foram medidos: eficiência quântica máxima do fotossistema II [$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$], eficiência quântica efetiva do fotossistema II [$Y(II) = (F_m' - F_s)/F_m'$], quenching não fotoquímico [$NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$] e taxa aparente de transporte de elétrons no fotossistema II [$ETR = (\Delta F/F_m' \times \text{PPFD} \times 0,4 \times 0,85)$]. Para ETR, 0,4 foi usado como fração da energia de excitação distribuída para o PSII e 0,85 como fração de luz absorvida pelas folhas. O F_m e F_o são, respectivamente, fluorescência máxima e mínima de folhas adaptadas ao escuro e, F_m' e F_s , são respectivamente, fluorescência máxima e em equilíbrio dinâmico e F_o' é a fluorescência mínima após iluminação com vermelho-distante de folhas expostas a luz (GENTY et al., 1989; SCHREIBER et al., 1994; SILVA et al., 2010).

4.3 Curvas de resposta da fotossíntese ao CO_2 (A- C_i)

Foram realizadas curvas de resposta da fotossíntese à concentração intracelular de CO_2 . A fotossíntese foi acompanhada em diversas concentrações de CO_2 na câmara de medida. Essas concentrações foram de 400, 300, 200, 100, 50,

400, 600, 800, 1200, 1600 e 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. A partir dessa curva foram calculadas as limitações metabólica (L_m) e estomática (L_s).

As limitações estomáticas (L_s) e metabólicas (L_m) foram calculadas através das curvas A- C_i como descrito por Lawlor (2002). Para a obtenção dos valores de L_s , utilizou-se a seguinte equação: $L_s = [(A_{\text{pot}} - A_c) / A_{\text{pot}}] \times 100$, onde a fotossíntese potencial (A_{pot}) corresponde ao valor de A quando a concentração de CO_2 no espaço intercelular foliar (C_i) era igual a 400 ppm e A_c corresponde ao valor de A quando a concentração de CO_2 atmosférico era igual a 400 ppm. O percentual de L_m nas plantas controle (+K) foi definido como 0% e nas plantas em condição -K como o percentual do valor de A_{pot} das plantas neste tratamento em relação a A_{pot} das plantas controle.

4.4 Conteúdo relativo de água (CRA) e dano de membrana

Para avaliar o conteúdo relativo de água (CRA), dez discos de mesmo 2 cm^2 obtidos das folhas utilizadas na medição de trocas gasosas foram coletados e pesados para obtenção da massa fresca (MF). Em seguida, estes discos foram imersos em 10 mL de água deionizada por 24 h a temperatura ambiente no escuro. Após este tempo, foram novamente pesados para obtenção da massa túrgida (MT). Depois, estes discos foram levados à estufa a 65 °C com circulação forçada de ar por três dias e pesados para obtenção da massa seca (MS). Em seguida, o CRA foi obtido a partir da fórmula $\text{CRA} = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100$ (BARS, 1968; BOYERS, 1968).

O dano de membrana (DM) foi estimado a partir do vazamento de eletrólitos utilizando dez discos obtidos da mesma folha utilizada para a medida do CRA. Esses discos foram imersos em 10 mL de água deionizada por 8 h. Em seguida, a condutividade elétrica dessa suspensão foi medida (C_1). 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 (C_2). Para obtenção do DM, as medidas foram inseridas na fórmula $\text{DM} = (C_1 / C_2) \times 100$.

4.5 Determinação do conteúdo de carboidratos e K

Amostras da parte aérea e raízes foram condicionadas em água deionizada e aquecidas em banho-maria a 99 °C. Este extrato foi utilizado para determinar os conteúdos de potássio e carboidratos solúveis totais. A concentração de K nos tecidos

foi determinada por fotometria de chama (Micronal, São Paulo, Brasil) e expressa em % de K na MS. A concentração de carboidratos solúveis totais foi determinada pelo método do ácido fenol-sulfúrico, descrito por Dubois et al., (1956), na qual adicionou-se 1 mL de fenol dissolvido em ácido sulfúrico, concentração de 5% (p/v), em tubos de ensaio contendo os extratos das amostras e, após 15 minutos, realizou-se a leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 490 nm.

4.6 Atividade do PSI e fluorescência da clorofila a ao final do experimento

Os parâmetros do P700 e fluorescência da clorofila a, ao final do experimento, foram mensurados em temperatura ambiente (25°C) com um sistema de monitoramento Dual-PAM-100, do inglês “dual-wavelength pulse-amplitude modulated fluorescence monitoring” (Heinz Walz, EffeTrich, Alemanha) de acordo com Schreiber (2004) e as instruções do fabricante. As plantas foram adaptadas ao escuro por 20 minutos antes de todas as mensurações. A intensidade luminosa foi de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A fluorescência intrínseca às amostras (F_o) foi determinada após a permanência do tecido foliar em completa escuridão por 20 min, assim como o sinal máximo do P700 (P_m). Pulsos de saturação foram aplicados para obter a fluorescência máxima nas amostras adaptadas ao escuro. A eficiência máxima da fotoquímica primária do PSII (F_v/F_m) foi então determinada pela aplicação de um pulso de saturação de 0,8s, com intensidade de 10.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sendo o F_v/F_m estimado como $(F_m - F_o)/F_m$. Com as amostras iluminadas e adaptadas a luz, foram determinados F_o' e P_m' , os quais são a fluorescência mínima em amostras adaptadas a luz e o sinal máximo do P700 em amostras adaptadas a luz respectivamente. Os parâmetros de dissipação de energia do PSII e PSI foram calculados de acordo com as instruções do fabricante. O rendimento quântico não fotoquímico do PSI, a fração oxidada do PSI $Y(\text{ND})$ foi estimada como $Y(\text{ND}) = 1 - P700_{\text{red}}$, onde $P700_{\text{red}}$ é a mudança no estado redox do P700 obtida pela diferença entre a transmitância a 875 e 830 nm. O rendimento quântico não fotoquímico do PSI, o qual não pode ser oxidado por um pulso de saturação $Y(\text{NA})$, foi calculado como $Y(\text{NA}) = (P_m - P_m')/P_m$, onde P_m e P_m' são a variação máxima do sinal do P700 em amostras adaptadas ao escuro e a luz, respectivamente.

Todos os parâmetros fluorimétricos e de absorvância do P700 foram obtidos da folha +1.

5 RESULTADOS

5.1 Crescimento das plantas

Aos 20 dias de privação de potássio, as plantas (com 35 dias de idade) apresentavam diferenças visuais marcantes quanto ao fenótipo tanto da parte aérea quanto das raízes (FIGURA 2). As folhas das plantas deficientes em K (-K) apresentavam-se menos túrgidas, mais susceptíveis a danos mecânicos e menores em comparação as plantas bem nutridas em K (+K) (FIGURA 2A), exibindo ainda menor largura das folhas e presença de necrose nas bordas das mesmas, sintoma clássico de deficiência de potássio (ZÖRB, 2014) (FIGURA 2C). O diâmetro e o aspecto visual do colmo também foram afetados pela deficiência de K, sendo este mais fino e mecanicamente mais frágil nas plantas K (FIGURA 2D). O crescimento das raízes das plantas -K também foi visivelmente menor, tendo estas apresentado menor volume, coloração escura, com alguns pontos necróticos (FIGURA 2B).

A deficiência de potássio reduziu significativamente a massa fresca das folhas, colmos e raízes do milho ($P < 0.05$) em 54, 63 e 59%, respectivamente (TABELA 1). Ainda, o diâmetro do colmo e o conteúdo relativo de água nas folhas também foram significativamente afetados pela privação de potássio ($P < 0.05$), sendo 36 e 15% menores nas plantas submetidas a deficiência de K, respectivamente (TABELA 1). A taxa de emissão e o número final de folhas não foram afetados pela deficiência. O particionamento da matéria fresca das plantas não foi influenciado pela deficiência deste nutriente (FIGURA 3), o que evidencia que o desenvolvimento das partes vegetativas não foi prejudicado, apenas seu crescimento.

Figura 2 - Aspecto visual da (A) parte aérea, (B) raízes, (C) das folhas e (D) colmos de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condição normal de cultivo (+K) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (-K).



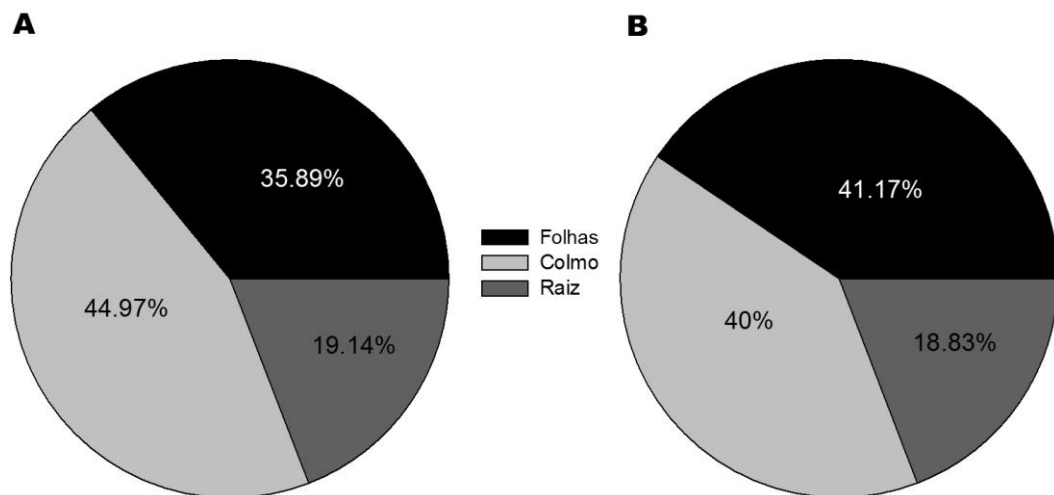
Tabela 1 – Massa fresca (MF) das folhas, colmo, raízes e total, diâmetro do colmo e conteúdo relativo de água (CRA) de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade submetidas a deficiência de potássio^a por 20 dias. Valores representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Parâmetros	Tratamentos	
	+K	-K
MF Folhas ^b	75 \pm 18*	35 \pm 0.6
MF Colmo ^b	94 \pm 20*	34 \pm 10
MF Raízes ^b	40 \pm 11*	16 \pm 6
MF Total ^b	210 \pm 49.3*	85 \pm 16.6
Número de Folhas Expandidas	6 \pm 0	5.66 \pm 0.57
Diâmetro do Colmo ^c	20.2 \pm 2.7*	12.9 \pm 0.8
CRA ^d	87.5 \pm 1.25*	74.3 \pm 3.0

^a +K : Solução nutritiva com 6 mM de K, -K : Solução nutritiva deficiente em K (≈ 0.03 mM K)

^b g planta⁻¹, ^c mm planta⁻¹, ^d %

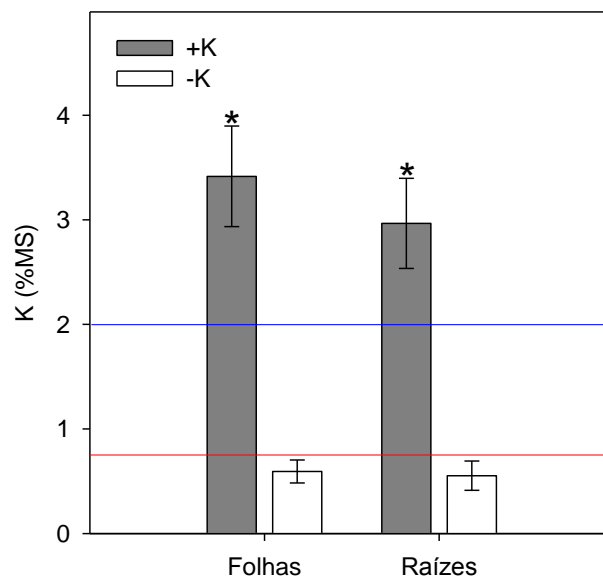
Figura 3 – Representação gráfica do particionamento da matéria fresca de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (A) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (B). Valores representam a participação dos diferentes órgãos em % na massa fresca total.



5.2 Conteúdo de potássio, carboidratos solúveis, potencial osmótico e danos de membrana

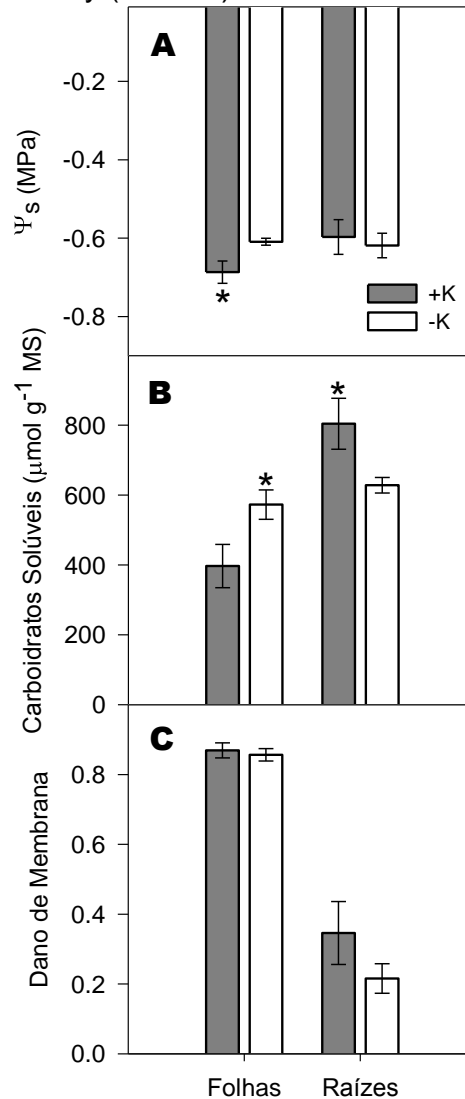
Como esperado, as plantas -K apresentaram menor conteúdo de K na matéria seca (MS), tanto nas folhas (82% menor) quanto nas raízes (80% menor), comparadas as plantas +K após 20 dias de privação de K, ($P < 0.05$) (FIGURA 4). O nível de potássio na MS das folhas das plantas -K ficou abaixo do nível crítico reportado na literatura para milho (0.75% K na MS), enquanto que o nível nas folhas das plantas +K ficou acima do ótimo (2.0% K na MS) (MACKAY e LEEFE, 1961; ESTES et al., 1976).

Figura 4 – Conteúdo de potássio em folhas e raízes de plantas de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (barras cinzas) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (barras brancas). As linhas vermelha e azul marcam as concentrações crítica e normal de potássio, respectivamente, no tecido foliar de milho. As barras representam as médias de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).



O potencial osmótico (Ψ_s) nas folhas das plantas +K foi 11% maior em comparação ao das folhas das plantas -K ($P < 0.05$), não havendo diferença nas raízes entre os tratamentos (FIGURA 5A). O conteúdo de carboidratos solúveis totais foi 30% maior nas folhas e 20% menor nas raízes das plantas -K em comparação às +K ($P < 0.05$) (FIGURA 5B), sendo este um dos efeitos mais relatados na literatura em relação a deficiência de potássio (MARSCHNER, 1995). A deficiência de K não afetou a integridade das membranas das células de folhas e raízes de milho neste experimento (FIGURA 5C).

Figura 5 – Potencial osmótico (A), carboidratos solúveis totais (B) e danos de membrana (C) em folhas e raízes de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (barras cinza) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (barras brancas). As barras representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

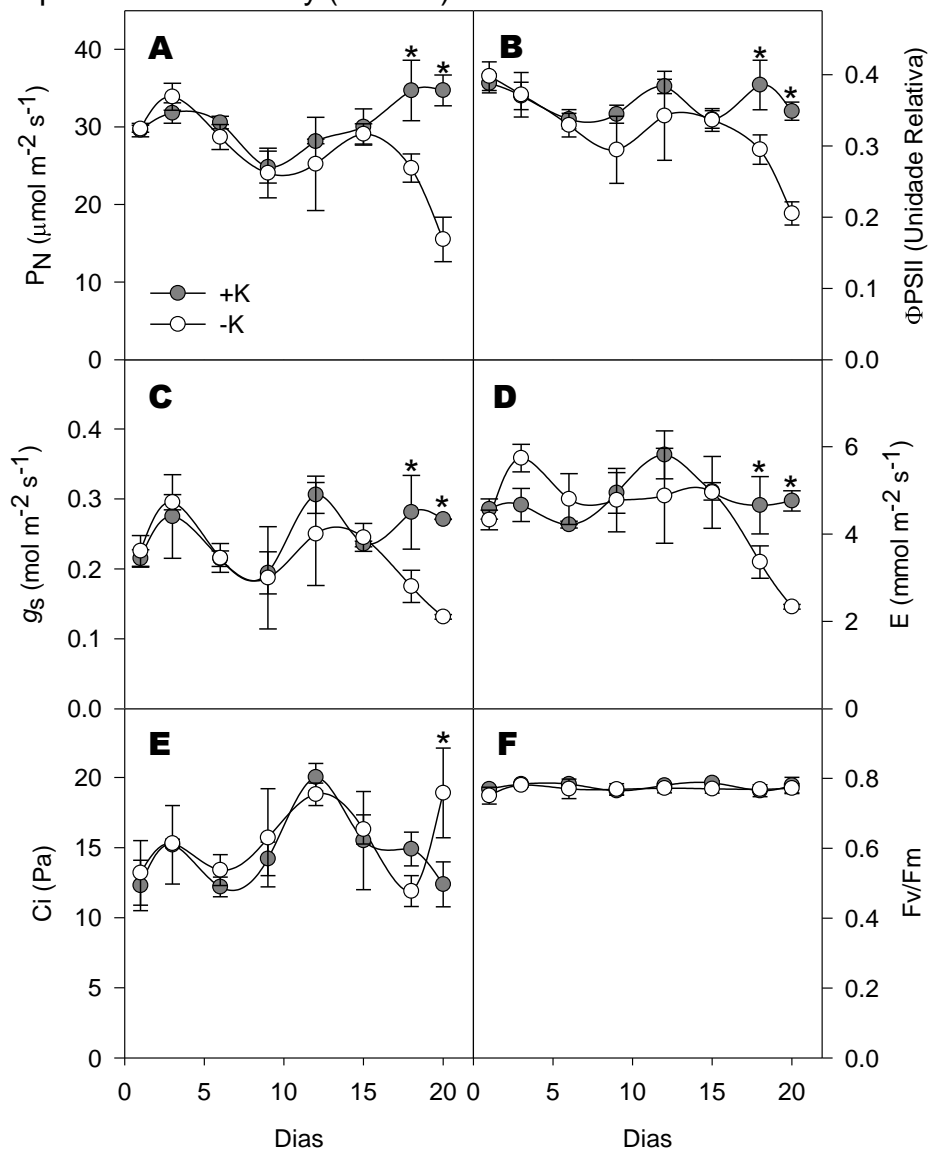


5.3 Trocas gasosas, eficiência e rendimento quântico do PSII ao longo do tempo

Ao longo dos 20 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAT), somente houve diferença significativa nos parâmetros de trocas gasosas avaliados a partir do 18º dia (FIGURA 6). A fotossíntese líquida (P_N) da folha 1+, aos 18 DAT, foi 30% menor nas plantas -K em comparação às +K e 52% menor aos 20 DAT ($P < 0.05$) (FIGURA 6A). A condutância estomática (g_s) foi 37 e 39% menor aos 18 e 20 DAT, respectivamente, nas plantas -K em comparação as plantas +K ($P < 0.05$) (FIGURA

6C). A transpiração (E) seguiu a mesma tendência da g_s , sendo 27 e 34% menor nos 18 e 20 DAT, respectivamente ($P < 0.05$) (FIGURA 6D). A concentração de CO_2 intracelular foi 34% maior nas plantas -K aos 20 DAT. Os dados mostram que a deficiência de potássio somente foi capaz de induzir mudanças nos parâmetros de trocas gasosas quando o crescimento das plantas já estava prejudicado pela privação de K. No entanto, vale ressaltar que as medidas de trocas gasosas realizadas não remetem a planta inteira, devido a limitações do método de mensuração utilizado.

Figura 6 – Fotossíntese líquida (A), eficiência quântica do fotossistema II (B), condutância estomática (C), transpiração (D), concentração de CO_2 intracelular (E), rendimento quântico máximo do fotossistema II (F) de plantas jovens de milho cv. BR5011 em condições normais de cultivo (círculos cinza) e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias (círculos brancos). Os pontos representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).



A eficiência quântica do fotossistema II (Φ PSII) decresceu 24 e 41% no tratamento -K em relação ao +K aos 18 e 20 DAT, respectivamente (FIGURA 6B). No entanto, o rendimento quântico do fotossistema II (F_v/F_m) não sofreu alteração ao longo do tempo, devido a deficiência de K (FIGURA 6F). Estes resultados indicam que a redução na eficiência do PSII não está ligada a danos diretos aos complexos coletores de luz ou proteínas relacionadas ao fotossistema.

5.4 Trocas gasosas, curvas de resposta da fotossíntese a luz e a concentração de CO₂ intracelular

A deficiência de potássio induziu mudanças em todos os parâmetros de trocas gasosas avaliados e suas relações ($P < 0.05$). A fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração foram menores nas plantas -K 52, 39 e 32%, respectivamente, comparadas as plantas +K. A eficiência do uso da água, representada pela relação P_N / E , foi maior 25% nas plantas +K em relação as plantas -K, indicando a capacidade das plantas +K fixar mais CO₂ com um mesmo volume de água transpirado. A relação entre o transporte aparente de elétrons (ETR) e a P_N , que indica a utilização de energia fotoquímica em outros processos que não a fixação de CO₂ (RIBEIRO et al., 2009), foi 20% maior nas plantas deficientes em K em relação as plantas +K ($P < 0.05$).

A partir da curvas de resposta da fotossíntese a radiação fotossinteticamente ativa (A-PAR) (FIGURA 7) e a concentração de CO₂ intracelular (A-Ci) (FIGURA 8), foram obtidos os parâmetros: Fotossíntese máxima (P_{Nmax}), respiração no escuro (R_d), ponto de compensação de luz (Curva A-PAR), limitações metabólica e estomática da fotossíntese (L_m e L_s , respectivamente) (Curva A-Ci) (TABELA 3). A P_{Nmax} das plantas -K foi 30% menor em comparação com as +K ($P < 0.05$). Não houve diferença significativa na R_d entre os tratamentos e o ponto de compensação de luz foi 30% maior nas plantas -K. A limitação metabólica, a qual é obtida por uma comparação entre uma condição padrão e uma condição que se pretende avaliar sendo, por definição, 0% para as plantas +K e 55% nas plantas -K. Isso indica que num mesmo C_i , a fotossíntese das plantas -K será menor por limitações relacionadas aos mecanismos de fixação de CO₂. A limitação estomática nas plantas -K foi 82% menor em comparação com as plantas +K ($P < 0.05$). Isso indica

que a queda na fotossíntese das plantas deficientes em potássio não está relacionada com a abertura estomática.

Tabela 2 – Fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência do uso da água na fotossíntese (P_N/E), concentração de CO_2 no mesófilo (C_i), relação entre o transporte aparente de elétrons e assimilação de CO_2 ($ETR(II)/P_N$) em plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias. Os valores representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Parâmetros	Tratamentos	
	+K	-K
P_N^b	$32.74 \pm 1.98^*$	15.5 ± 2.87
g_s^c	$0.217 \pm 2.5 e^{-4}$	$0.131 \pm 3.3 e^{-3}$
E^d	$3.60 \pm 0.23^*$	2.34 ± 0.05
P_N/E^e	$8.82 \pm 0.34^*$	6.61 ± 1.07
C_i^f	12.38 ± 1.64	$18.99 \pm 3.24^*$
$ETR(II)/P_N^g$	4.55 ± 0.05	$5.74 \pm 0.43^*$

^a +K : Solução nutritiva com 6 mM de K, -K : Solução nutritiva deficiente em K (≈ 0.03 mM K)

^b $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ^c $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ^d $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ^e $\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{Pa}$, ^f Pa, ^g $\mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$.

Figura 7 – Curvas de reposta da fotossíntese (P_N) a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (círculos cinzas) e submetidas a deficiência de potássio (círculos brancos) por 20 dias. Os pontos representam a média de três repetições \pm DP.

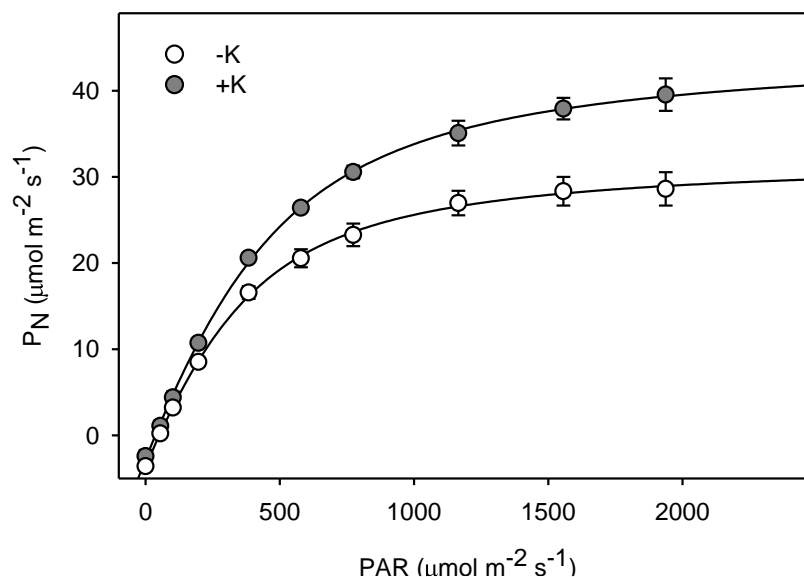


Figura 8 – Resposta da fotossíntese (P_N) à concentração intracelular de CO_2 (C_i) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo (círculos cinzas) e submetidas a deficiência de potássio (círculos brancos). Cada ponto representa a média de três repetições \pm DP.

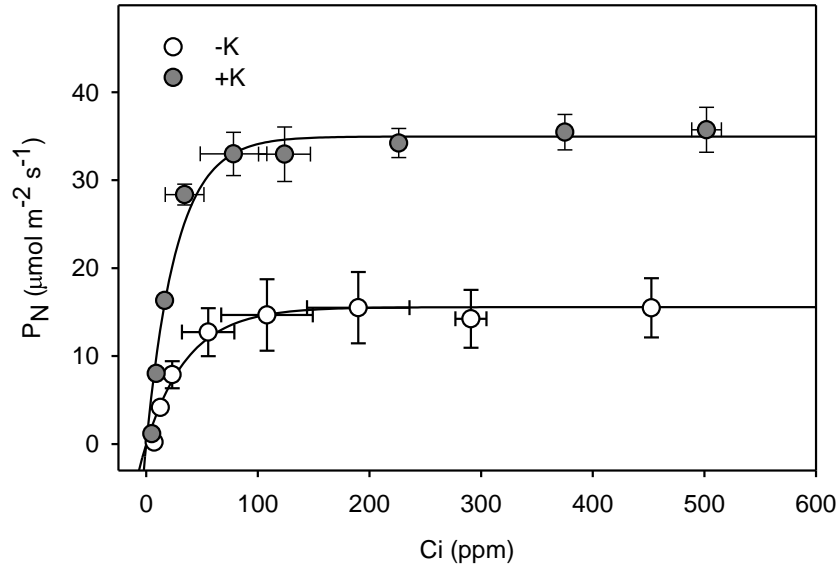


Tabela 3 – Fotossíntese máxima (P_{Nmax}), respiração no escuro (R_d), ponto de compensação de luz e limitações metabólica e estomática (L_m e L_s , respectivamente) de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio^a. Os valores representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0.05$) pelo teste de Tukey.

Parâmetros	Tratamentos	
	+K	-K
P_{Nmax}^b	45.02 \pm 2.89*	32.30 \pm 5.28
R_d^b	2.790 \pm 0.830	3.620 \pm 0.840
Ponto de Compensação ^b	36.10 \pm 6.30	51.53 \pm 5.71*
L_m^c	---	55.41 \pm 7.90
L_s^c	6.24 \pm 0.59*	1.08 \pm 0.25

^a +K : Solução nutritiva com 6 mM de K, -K : Solução nutritiva deficiente em K (≈ 0.03 mM K)

^b $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ^c %

5.5 Parâmetros da análise da fluorescência da clorofila e absorvância do P700

Diversos parâmetros oriundos da análise da fluorescência da clorofila foram descritos para as plantas deficientes em K e em condição normal de cultivo (TABELA 4). O rendimento quântico máximo do PSII não foi afetado pela deficiência de potássio

em plantas de milho. A eficiência quântica do PSII (Y(II)) e a taxa de transporte aparente de elétrons no PSII (ETR(II)), foi 58% menor nas plantas -K em comparação as +K ($P < 0.05$), indicando a menor capacidade do PSII das plantas deficientes em converter energia fotoquímica. O quenching não fotoquímico (NPQ) foi 40% maior nas plantas deficientes em K, em comparação com as plantas +K ($P < 0.05$).

Tabela 4 – Rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm), eficiência quântica do PSII (Y(II)), taxa de transporte de elétrons do PSII (ETR(II)) e quenching não fotoquímico de plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias^a. Valores representam a média de três repetições \pm DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Parâmetros	Tratamentos	
	+K	-K
Fv/Fm	0.762 \pm 0.021	0.759 \pm 0.002
Y(II)	0.253 \pm 0.034*	0.106 \pm 0.006
ETR(II) ^b	109.5 \pm 21.0*	45.85 \pm 3.5
NPQ	0.846 \pm 0.039	1.402 \pm 0.37*

^a +K : Solução nutritiva com 6 mM de K, -K : Solução nutritiva deficiente em K (≈ 0.03 mM K)

^b $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Os parâmetros obtidos através da técnica de análise da diferença absorvância do P700 a 875 e 830 nm foram descritos neste trabalho para as plantas crescendo em ambas as concentrações de potássio na solução (TABELA 5). Não houve diferença entre os tratamentos no sinal máximo do P700 das plantas adaptadas ao escuro. No entanto, a eficiência quântica do PSI (Y(I)) e a taxa de transporte aparente no PSI (ETR(I)) foi 50% menor nas plantas -K em comparação com as +K ($P < 0.05$). Os rendimentos quânticos não fotoquímicos relacionados ao lado doador (Y(ND)) e receptor (Y(NA)) do PSI foram afetados pela deficiência de potássio. Y(ND) foi 42% maior nas plantas -K em comparação com as plantas +K ($P < 0.05$), enquanto o Y(NA) foi 31% maior nas plantas +K ($P < 0.05$). Isso indica que as plantas deficientes em potássio sofrem mais limitação do lado doador do PSI, enquanto que as plantas bem nutridas em K são mais limitadas pelo lado receptor.

Tabela 5 – Sinal máximo do P700 adaptado ao escuro (Pm), eficiência quântica do PSI (Y(I)), taxa de transporte de elétrons do PSI (ETR(I)), rendimento quântico não fotoquímico relacionado ao lado doador do PSI (Y(ND)), rendimento quântico não fotoquímico relacionado ao lado aceptor do PSI (Y(NA)) e fluxo cíclico de elétrons (CEF = ETR(I)/ETR(II)) em plantas jovens de milho cv. BR5011 com 35 dias de idade em condições normais de cultivo e submetidas a deficiência de potássio por 20 dias^a. Os valores representam a média de três repetições ± DP. Os asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey (P<0.05).

Parâmetros	Tratamentos	
	+K	-K
Pm	2.290 ± 0.196	2.374 ± 0.303
Y(I)	0.452 ± 0.022*	0.223 ± 0.029
ETR(I) ^b	195.2 ± 9.6*	96.1 ± 12.4
Y(ND)	0.380 ± 0.010	0.662 ± 0.062*
Y(NA)	0.168 ± 0.045*	0.115 ± 0.021
CEF	1.80 ± 0.16	2.09 ± 0.16

^a +K : Solução nutritiva com 6 mM de K, -K : Solução nutritiva deficiente em K (≈0.03 mM K)

^b μmol m⁻² s⁻¹

6 DISCUSSÃO

Objetivou-se com este estudo experimental caracterizar o crescimento, desenvolvimento, atividade fotossintética e as relações hídricas / osmóticas de plantas de milho submetidas a deficiência de K. O aparecimento dos sintomas inerentes a deficiência de K nas folhas das plantas de milho ocorreu apenas após 17 DAT, sendo observada redução no diâmetro e resistência do colmo já aos 12 DAT, sendo este o sintoma mais evidente. Vários autores reportam a demora no aparecimento dos sintomas de deficiência de K em diversas espécies vegetais (KANAI et al., 2011; LI et al., 2011; BATTIE-LACLAU et al., 2014) estes ocorrendo somente quando os níveis de potássio caem drasticamente nas folhas. A forte redução no crescimento, evidenciada pela menor massa fresca total (60%), nas plantas de milho deficientes em potássio esteve mais associada ao menor tamanho dos órgãos vegetativos do que ao seu desenvolvimento, fenômeno evidenciado pelo particionamento da matéria fresca das plantas -K em comparação com as plantas +K, este sendo basicamente idêntico. Tal fato pode ter sido influenciado pelo estágio de desenvolvimento em que as plantas se encontravam no momento de imposição da deficiência, estágio V3.

Neste estágio, todas as folhas e espigas que a planta eventualmente irá produzir estão praticamente formadas (MAGALHÃES e DURÃES, 2006). Em plantas anuais, como o algodão, a deficiência de K causa redução no acúmulo de matéria nos caules e aumento nas folhas, onde em condições ótimas de cultivo o inverso seria o normal (KROPFF e LOTZ, 1993; GERARDEAUX et al., 2010).

A redução no crescimento destas plantas pode estar associada à menor pressão de turgor nas células em desenvolvimento. O CRA das plantas -K foi 15% menor em relação as plantas +K. Hsiao e Xu (2000), trabalhando com plantas de algodão, relataram que variações mínimas no CRA, quando este está acima de 85%, resultam em quedas drásticas no potencial hídrico (Ψ_w) da folha, sendo grande parte dessa redução atribuída a perda de pressão hidrostática no interior da célula (Ψ_p). Ainda, variações no Ψ_s pouco afetam o Ψ_w final de plantas com CRA acima de 85%. Apesar de não haver acessos ao Ψ_w das folhas neste experimento, podemos afirmar que sob a deficiência de K o Ψ_w das folhas caiu, uma vez que o CRA foi menor nas plantas -K, ocasionando queda na taxa de expansão celular, sendo este processo o primeiro a ser afetado pela queda do Ψ_w das plantas (HSIAO e AZEVEDO, 1974). Apesar do Ψ_s ter sido 11% maior nas folhas das plantas -K, este aumento somente não poderia acarretar uma redução tão drástica no CRA sem a perda de Ψ_p . Assim, pode-se concluir que, neste experimento, a privação de K em plantas de milho não afetou o desenvolvimento das partes vegetativas, sendo a redução do crescimento, devido o menor acúmulo de matéria nos tecidos, causada em parte pela redução do Ψ_p no interior das células em crescimento.

As concentrações de K nas folhas e raízes das plantas encontradas neste trabalho, ao final do experimento, estavam em acordo com o esperado para plantas de milho bem supridas e deficientes em K (ESTES et al., 1973; QU et al., 2012). A concentração de K nas folhas de plantas deficientes foi considerada crítica para o crescimento do milho (MACKAY e LEEFE, 1961; ESTES et al., 1973). O acúmulo de carboidratos solúveis nas folhas das plantas deficientes em potássio é um resultado bem documentado na literatura (PETTIGREW, 1999; POORTER et al., 2009; GERARDEAUX, et al., 2010). Neste experimento, houve maior acúmulo de carboidratos nas folhas das plantas deficientes em K em comparação as plantas +K. No entanto, o inverso ocorreu nas raízes. O K desempenha papel importante no transporte de sacarose através do floema, promovendo o carregamento da mesma no

último (MARSHNER, 1995). Assim, o acúmulo de carboidratos nas folhas (tecido produtor) e a redução da concentração destes nas raízes (tecido não produtor) podem ser explicados pelo transporte deficiente de carboidratos através do floema.

A redução no crescimento das plantas -K não deve ter se dado por limitação na produção de assimilados. Em algodão deficiente em K, foi relatada a redução no crescimento dos órgãos vegetativos de acordo com a distância destes dos tecidos fontes de fotoassimilados, assim como o acúmulo de açúcares nos mesmos, sendo a causa do menor tamanho destes órgãos atribuída a limitações no transporte desses assimilados (GERARDEAUX, et al., 2010). Assim, reduções no crescimento de plantas deficientes em potássio, provenientes do menor tamanho dos órgãos vegetais, devem ocorrer antes mesmo que a P_N destas seja substancialmente afetada. Neste experimento, a deficiência de K causou queda na P_N do milho somente a partir do 18 DAT, momento onde o crescimento destas plantas já se encontrava limitado.

O nível crítico de K nas folhas de milho (0.75% K na MS) encontrado na literatura é baseado na concentração que limita severamente a fotossíntese (ESTES et al., 1973). Nas plantas de milho estudadas aqui, enquanto a g_s foi menor nas plantas -K, a C_i foi maior nas mesmas, indicando que a maior influência do K na P_N deve estar associada a uma maior resistência do mesofilo e/ou a capacidade reduzida de fixação do CO_2 no ciclo de Calvin-Benson, do que a limitações estomáticas. Conclusões similares foram previamente reportadas para algodão (ZHAO et al., 2001; GERARDEAUX et al., 2009), *Carya cathayensis* (JIN et al., 2011) e *Prunus dulcis* (BASILE et al., 2003). Os resultados de P_N/E e ETR/P_N mostram ainda que as plantas +K eram mais eficientes tanto no uso da água quando na alocação de elétrons para a fotossíntese. De fato, neste experimento a L_m da fotossíntese foi de 55% para as plantas -K em relação as +K e a P_{Nmax} foi 30% maior nas plantas +K, o que demonstra a menor capacidade das plantas -K em assimilar o CO_2 , mesmo com C_i e luminosidade idênticos as plantas +K. Em plântulas de *C. cathayensis*, o baixo suprimento de K levou ao aumento no C_i e na concentração de CO_2 nos cloroplastos (C_c), sendo este aumento no C_c não relacionado ao estado de ativação da RubisCO (JIN et al., 2011). A desativação *in vivo* da RubisCO foi observada em trabalhos anteriores em $C_c < 100 \mu\text{mol mol}^{-1}$ em soja (FLEXAS et al., 2006) e em $C_c < 120 \mu\text{mol mol}^{-1}$ em espécies Mediterrâneas (GALMÉS et al., 2011). Assim, para os valores de C_c reportados por Jin et al. (2011), seria pouco provável que a redução da P_N estivesse se dando por desativação da RubisCO por devido a baixo C_c . No entanto, pouco se

sabe sobre o que acarreta este aumento na C_i em espécies C4. É possível que, como estas possuem mecanismos de concentração de CO_2 , este aumento na C_i esteja relacionado a menor expressão / desativação da fosfenolpiruvato carboxilase (PEPCase) resultante de processos bioquímicos diversos. No entanto, este estudo não fornece dados suficientes para negar ou confirmar esta hipótese.

O uso da análise da fluorescência da clorofila e absorvância do P700 permitem um rápido acesso a informações associadas com as cinéticas de reação da luz com os PSI e II (SCHREIBER et al., 1995; SCHREIBER, 2004). A relação F_v/F_m , a qual indica o rendimento quântico do PSII (LICHTENTHALER e BABANI, 2004) é comumente utilizada para avaliar perturbações no transporte de elétrons ou danos a estrutura dos tilacóides no lado doador do PSII (SKÓRZYNSKA-POLIT e BASZYNSKI, 1995). Os dados presentes neste estudo sugerem que a deficiência de K, durante 20 dias, não foi capaz de causar danos ao lado doador do PSII de plantas de milho.

A energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila pode proceder por três caminhos: promover a fotossíntese, ser dissipada como calor ou reemitida na forma de fluorescência (KRAUSE e WEIS, 1991; OXBOROUGH e BAKER, 1997; BAKER e ROSENQVIST, 2004; MACEDO et al., 2008). $Y(II)$, o qual representa o rendimento da fotoquímica da fotossíntese; a eficiência com a qual o PSII converte energia fotoquímica, foi menor nas plantas -K neste experimento e está de acordo com os resultados encontrados para milho sob deficiência de K (QU, et al., 2012). No entanto, similar ao que aconteceu com os parâmetros de trocas gasosas, esta queda no $Y(II)$ só foi observada aos 18 DAT. Ainda, o NPQ (o qual está ligado a processos relacionados a dissipação do excesso de energia na forma de calor, a fim de proteger a fotossíntese em ambientes onde a absorção de luz excede a sua capacidade de utilização (MAXWELL e JOHNSON, 2000; MÜLLER et al., 2001) das plantas -K foi substancialmente maior que o das plantas +K, sugerindo que a deficiência de K não reduziu a capacidade das plantas de milho de proteger o seu aparato fotossintético. Este resultado corrobora para a afirmação de que a regulação negativa da fotossíntese pela deficiência de potássio em plantas de milho é causada por desbalanços nos processos fisiológicos relacionados ao crescimento normal das plantas, estando o baixo crescimento destas plantas não diretamente relacionado a queda na atividade fotossintética.

$Y(ND)$ é uma mensuração da limitação do lado doador do PSI, o qual aumenta de acordo com o gradiente de prótons transtilacoidal e danos causados a

nível do PSI. $Y(NA)$ é uma mensuração da limitação proveniente do lado acceptor de elétrons do PSI, a qual aumenta com a adaptação da planta ao escuro (desativação de enzimas chave do ciclo de Calvin-Benson) e danos a nível dos mecanismos de fixação do CO_2 . $Y(I)$ é calculado a partir destes dois rendimentos quânticos não fotoquímicos complementares (KRAMER et al., 2004). Os dados obtidos neste experimento sugerem que, sob deficiência de K, plantas de milho têm a atividade do PSI limitada principalmente pelo lado doador, sendo este resultado já relatado na literatura (QU et al., 2012). No entanto, os mecanismos que por trás deste fenômeno ainda precisam ser descritos por estudos mais aprofundados.

Conclui-se que a fotossíntese de plantas de milho deficientes em potássio somente é negativamente afetada quando as plantas já apresentam redução significativa no crescimento, sendo esta, portanto, não relacionada a produção de fotoassimilados. A redução no crescimento de plantas de milho deficientes em potássio deve se dar por perda de Ψ_p devido ao menor CRA apresentado por estas plantas. Ainda, o conceito que afirma que os níveis de concentração de açúcares nos tecidos podem atuar como sinais morfogenéticos em órgãos em desenvolvimento (BLACK et al., 1995; ROITSCH et al., 2000; ROITSCH e GONZALES, 2004; WACLAWOVSKY et al., 2006) pode estar envolvido nesta redução de crescimento destas plantas, no entanto esta afirmação permanece como uma hipótese a ser testada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, E.; SHIN, R. Transport, signaling and homeostasis of potassium and sodium in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, p. 231-249, 2014.

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.

AHN, S.J.; SHIN, R.; SCHACHTMAN, D.P. Expression of KT/KUP genes in Arabidopsis and the role of root hairs in K⁺ uptake. **Plant Physiology**, v. 134, p. 1135-1145, 2004.

ALVAREZ, C.E.; SAIGO, M.; MARGARIT, E.; ANDREO, C.S.; DRINCOVICH, M.F. Kinetics and functional diversity among the five members of the NADP-malic family from *Zea mays*, a C₄ species. **Photosynthesis Research**, v. 115, 2013. p. 65–80.

AMTMANN A, HAMMOND JP, ARMENGAUD P, WHITE PJ Nutrient sensing and signalling in plants: potassium and phosphorus. **Advanced Botany Research** v.43 p. 209–257. 2006.

ANDRÉS, Z.; PÉREZ-HORMAECHE, J.; LEIDI, E.O.; SCHLÜCKING, K.; STEINHORST, L.; MCLACHLAN, D.H.; SCHUMACHER, K.; HETHERINGTON, A.M.; KUDLA, J.; CUBERO, B.; PARDO, J.M. Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake. **PNAS**, p. 1806-1814. 2014.

ARAKAKI, M.; CHRISTIN, P-A.; NYFFELER, R.; LENDEL, A.; EGGLI, U.; OGBURN, R.M.; SPRIGGS, E.; MOORE, M.J.; EDWARDS, E.J. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 108, p. 8379–8384, 2011.

ARANDA-SICILIA, M.N.; CAGNAC, O.; CHANROJ, S.; SZE, H.; RODRÍGUEZ-ROSALES, M.P.; VENEMA, K. *Arabidopsis* KEA2, a homolog of bacterial KefC, encodes a K(+)/H(+) antiporter with a chloroplast transit peptide. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1818, p. 2362-2371, 2012.

ASHLEY MK, GRANT M, GRABOV A. Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. **Journal of Experimental Botany**. V. 57, p425–436. 2006.

ASSMANN S.M., SHIMAZAKI K. The multisensory guard cell, stomatal responses to blue light and abscisic acid. **Plant Physiology** v.119: p.809–815. 1999

BAETHGEN, W. E.; ALLEY, M. M. A. A manual colorimetric procedure for measuring

ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digest. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 20, p. 961–969. 1989.

BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1607–1621, 2004.

BAÑUELOS, M.A.; GARCIADEBLAS, B.; CUBERO, B.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. Inventory and functional characterization of the HAK potassium transporters of rice. **Plant Physiology**, v. 130, p. 784-795, 2002.

BARRAGÁN, V., et al. Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis. **Plant Cell** v.24 p.1127–1142, 2012.

BARRE, P.; MONTAGNIER, C.; CHENU, C.; ABBADIE, L.; VELDE, B. Clay minerals as a soil potassium reservoir: observation and quantification through X-ray diffraction. **Plant Soil**. v. 302, p.213–20. 2008

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.

BEDNARZ, C.W.; OOSTERHUIS D.M.; EVANS R.D. Leaf photosynthesis and carbon isotope discrimination of cotton in response to potassium deficiency. **Environmental and Experimental Botany**. v.39, p.131–139, 1998.

BEERLING, D.J.; ROYER, D.L. Convergent Cenozoic CO₂ history. **Nature Geoscience**, v. 4, p. 418–420. 2011.

BERTHOMIEU, P.; CONÉJÉRO, G.; NUBLAT, A.; BRACKENBURY, W.J.; LAMBERT, C.; SAVIO, C.; UOZUMI, N.; OIKI, S.; YAMADA, K.; CELLIER, F.; GOSTI, F.; SIMONNEAU, T.; ESSAH, P.A.; TESTER, M.; VÉRY, A.A.; SENTENAC, H.; CASSE, F. Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na(+) recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. **EMBO J**, v. 22, p. 2004-2014, 2003.

BLACK, C.C.; LOBODA, T.; CHEN, J.Q.; SUNG, S.S. Can sucrose cleavage enzymes as markers for sink strength and is sucrose a signal molecule during plant sink development? In: PONTIS, H.G., SALERNO, G.L., ECHEVARRIA, E.J. (Eds.), **Sucrose Metabolism, Biochemistry, Physiology and Molecular Biology**. American Society for Plant Physiologists, p. 49–64. 1995.

BLUM, D.E.; ELZENGA, J.T.M.; LINNEMEYER, P.A.; VAN VOLKENBURGH, E. Stimulation of growth and ion uptake in bean leaves by red and blue light. **Plant Physiology**, v.100 p.1968–75, 1992.

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, p. 248-254, 1976.

BRÄUTIGAM, A.; SCHLIESKY, S.; KÜLAHOGLU, C.; OSBORNE, C.P.; WEBER, A.P.M. Toward an integrative model of C₄ photosynthetic subtypes: insights from comparative transcriptome analysis of NAD-ME, NADP-ME and PEP-CK C₄ species. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 3579-3593. 2014.

BRIGGS, W.R.; CHRISTIE, J.M. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 204-210, 2002.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. Cellular mechanisms of potassium transport in plants. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.637-650, 2008.

CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSCHNER, H. Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. **Journal of Experimental Botany**, v.45, p.1245–1250, 1994.

CATALDO, J. M.; HAROOM, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.

CHÉREL, I.; MICHARD, E.; PLATET, N.; MOULINE, K.; ALCON, C.; SENTENAC, H.; THIBAUD, J.B. Physical and functional interaction of the Arabidopsis K(+) channel AKT2 and phosphatase AtPP2CA. **Plant Cell**, v. 14 p. 1133-1146, 2002.

COELHO, A.M. Nutrição e Adubação do Milho. **Circular Técnica 78 EMBRAPA**, p. 1-9. 2006.

COOPMAN, R.E.; FUENTES-NEIRA, F.P.; BRICENO, V.F.; CABRERA, H.M.; CORCUERA, L.J.; BRAVO, L.A. Light energy partitioning in photosystems I and II

during development of *Nothofagus nitida* growing under different light environments in the Chilean evergreen temperate rain forest, **Trees-Structure and Function** 24247–24259, 2010.

CORRATGÉ-FAILLIE, C.; JABNOUNE, M.; ZIMMERMANN, S.; VÉRY, A.A.; FIZAMES, C.; SENTENAC, H. Potassium and sodium transport in non-animal cells: the Trk/Ktr/HKT transporter family. **Cell and Molecular Life Science**, v. 67, p. 2511-2532, 2010.

DEEKEN, R.; GEIGER, D.; FROMM, J.; KOROLEVA, O.; ACHE, P.; LANGENFELD-HEYSER, R. Loss of the AKT2/3 potassium channel affects sugar loading into the phloem of Arabidopsis. **Planta**, v.216, p. 334–344, 2002.

DOI, M.; WADA, M.; SHIMAZAKI, K. The fern *Adiantum capillusveneris* lacks stomatal responses to blue light. **Plant and Cell Physiology**, v. 47, p. 748-55, 2006.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal of Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.

EDWARDS, E.J.; OSBORNE, C.P.; STRÖMBERG, C.A.; SMITH, S.A.; C4 GRASSES CONSORTIUM, BOND, W.J.; CHRISTIN, P.A.; COUSINS, A.B.; DUVALL, M.R.; FOX, D.L.; FRECKLETON, R.P.; GHANNOUM, O.; HARTWELL, J.; HUANG, Y.; JANIS, C.M.; KEELEY, J.E.; KELLOGG, E.A.; KNAPP, A.K.; LEAKEY, A.D.; NELSON, D.M.; SAARELA, J.M.; SAGE, R.F.; SALA, O.E.; SALAMIN, N.; STILL, C.J.; TIPPLE, B. The origins of C₄ grasslands: integrating evolutionary and ecosystem science. **Science**, v. 328, p. 587–591, 2010.

DAVENPORT, R.J.; MUÑOZ-MAYOR, A.; JHA, D.; ESSAH, P.A.; RUS, A.; TESTER, M. The Na⁺ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis*. *Plant Cell and Environment*, v.30, p. 497-507, 2007.

ELLIOTT, W. H. Glutamine synthesis. **Methods in Enzymology**, v. 2, p. 337-342, 1955.

EPSTEIN, E.; ELZAM, O.E.; RAINS, D.W. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots. **PNAS**, v.49, p. 684–690, 1963.

ESTES, G.O.; KOCH, D.W.; BRUETSCH, T.F. Influence of potassium nutrition on net CO₂ uptake and growth in maize (*Zea mays* L.). **Agronomy Journal**, v. 65, p. 972–975, 1973.

FANCELLI, A.L. Milho. In: PROCHNOW; L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S.R. (Eds.) **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: culturas**. Anais do simpósio sobre boas práticas para uso eficiente de fertilizantes. Piracicaba: IPNI, v.3, p. 43-93, 2010.

FANG, Z.; MI, F.; BERKOWITZ, G.A. Molecular and physiological analysis of a thylakoid K⁺ channel protein. **Plant Physiology**, v. 108, p. 1725-1734, 1995.

FAO. **Current world fertilizer trends and outlook to 2015**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011.

FLEXAS J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, p. 73–82, 2006.

FRANKS, P.J.; BEERLING, D.J. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 106, p. 10343–10347, 2009.

GAJDANOWICZ, P.; MICHARD, E.; SANDMANN, M.; ROCHA, M.; CORREA, L.G.; RAMIREZ-AGUILAR, S.J. Potassium K⁺ gradients serve as a mobile energy source in plant vascular tissues. **PNAS**, v.108, p. 864–869, 2011.

GALMÉS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, 2011. p. 653–665.

GARCIADEBLÁS, B.; SENN, M.E.; BAÑUELOS, M.A.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. Sodium transport and HKT transporters: the rice model. **Plant Journal**, v. 34, p.788-801, 2003.

GEIGER, D.; SCHERZER, S.; MUMM, P.; STANGE, A.; MARTEN, I.; BAUER, H.; ACHE, P.; MATSCHI, S.; LIESE, A.; AL-RASHEID, K.A.; ROMEIS, T.; HEDRICH, R.; Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. **PNAS**, v.106, p. 21425-21430, 2009.

GEIGER, D.; SCHERZER, S.; MUMM, P.; MARTEN, I.; ACHE, P.; MATSCHI, S.; LIESE, A.; WELLMANN, C.; AL-RASHEID, K.A.; GRILL, E.; ROMEIS, T.; HEDRICH, R. Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca²⁺ affinities. **PNAS**, v.107, p. 8023–8028, 2010.

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.; 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.

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, 2010. p. 451–459.

GERHART, L.M.; WARD, J.K. Plant responses to low [CO₂] of the past. **New Phytologist**, v. 188, 2010. p. 674–95.

GOWIK, U.; WESTHOFF, P. The path from C₃ to C₄ photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, 2011. p. 56–63.

GRABOV, A. Plant KT/KUP/HAK potassium transporters: single family - multiple functions. **Annals of Botany**, v.99 p.1035–1041, 2007.

HAMPTON, C.R.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Short review: the mechanisms of radiocaesium uptake by *Arabidopsis* roots. **Nukleonika**, v. 50, p.S3–S8, 2005.

HATCH, M.D. C₄ pathway of photosynthesis. Evidence for an intermediate pool of carbon dioxide and identity of donor C₄ dicarboxylic acid. **The Biochemistry Journal**, v. 125, 1971. p. 425–432.

HASTINGS, D.F.; GUTKNECHT, J. Potassium and turgor pressure in plants. **Journal of Theoretical Biology**, v.73, p. 363–366, 1978.

HEDRICH, R. Ion channels in plants. *Physiol Rev* v.92(4), p.1777–1811, 2012. In: MAATHUIS, F.J.M.; SANDERS, D. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. **Physiologia Plantarum** v.96, p. 158–168, 1996.

HERMANS, C.; HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J.; VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation. **Trends in Plant Science**, v.11, p.610–617, 2006.

HIRSCH, R.E.; LEWIS, B.D.; SPALDING, E.P.; SUSSMAN, M.R. A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. **Science** v.280, p.918–921, 1998.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil. p. 32. California Agricultural Experiment Station, **Circular 347**, p. 1-39, 1950.

HORIE, T.; YOSHIDA, K.; NAKAYAMA, H.; YAMADA, K.; OIKI, S.; SHINMYO, A. Two types of HKT transporters with different properties of Na⁺ and K⁺ transport in *Oryza sativa*. **Plant Journal**, v. 27 p. 129-138, 2001.

HSIAO, T.C.; ACEVEDO, E. Plant responses to water deficits, efficiency and drought resistance. **Agriculture Meteorology**, v. 14, 1974. p. 59–84.

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, 2000. p. 1595-1616.

ISAYENKOV, S.; ISNER, J.C.; MAATHUIS, F.J. Vacuolar ion channels: Roles in plant nutrition and signalling. **FEBS Letters** v.584(10), p. 1982–1988, 2010.

IVASHIKINA, N.; DEEKEN, R.; FISCHER, S.; ACHE, P.; HEDRICH, R. AKT2/3 subunits render guard cell K⁺ channels Ca²⁺ sensitive. **Journal of Gene Physiology**, v. 125, p. 483-492, 2005

JIN, S.H.; HUANG, J.Q.; LI, X.Q.; ZHENG, B.S.; WU, J.S.; WANG, Z.J.; LIU, G.H.; CHEN, M. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*, **Tree Physiology**, v. 31, p. 1142-1151. 2011.

LÄUCHLI, A.; PFLÜGER, R. Potassium transport through plant cell membranes and metabolic role of potassium in plants. **Proceedings of the 11th International Congress of Potash**. Bern Institute, p. 111-163, 1978.

LIU, K.; LI, L.; LUAN, S. Intracellular K⁺ sensing of SKOR, a Shaker-type K⁺ channel from *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 46, p.260-268, 2006.

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.

KINOSHITA, T.; DOI, M.; SUETSUGU, N.; KAGAWA, T.; WADA, M.; SHIMAZAKI, K. Phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. **Nature**. v. 414, p. 656-660, 2001.

KINOSHITA, T.; SHIMAZAKI, K. Blue light activates the plasma membrane H⁺-ATPase by phosphorylation of the C-terminus in stomatal guard cells. **EMBO J**, v.18, p. 5548–5558, 2009.

KOLLER, D. Light-driven leaf movements. **Plant Cell and Environment**, v.13, p. 615–632, 1990.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 42, p. 313–349. 1991.

KROPFF, M.J.; LOTZ, L.A.P. Eco-physiological characterization of the species. *In*: KROPFF, M.J.; van LAAR, H.H. (Ed.). **Modelling crop–weed interactions**. Wallingford: CAB International, p. 83–104, 1993.

LAWLOR, D.W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, p. 871-885, 2002.

LEIGH, R.A.; WYN JONES R.G. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. **New Phytologist**, v. 97, p.1–13, 1984.

LI, X-T.; CAO, P.; WANG, X-G; CAO, M.J.; YU, H.Q. Comparison of gas exchange and chlorophyll fluorescence of low-potassium-tolerant and -sensitive soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars under low-potassium condition. **Photosynthetica**, v. 49, p. 633-636, 2011.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148: 350–382 , 1987.

LICHTENTHALER, H.K.; BABANI, F. Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in pigment composition chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic activity. *In*: PAPAGEORGIOU, G.C.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll Fluorescence: a Signature of Photosynthesis**. Dordrecht: Springer, p. 713–736, 2004.

MAATHUIS, F.J.M.; SANDERS, D. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. **Physiologia Plantarum**, v.96, p.158–168, 1996.

MACEDO, R.S.; LOMBARDI, A.T.; OMACHI, C.Y.; RORIG, L.R. Effects of the herbicide bentazon on growth and photosystem II maximum quantum yield of the marine diatom *Skeletonema costatum*. **Toxicology in Vitro**, v. 22, p. 716–722. 2008.

MAGALHÃES, P.C. et al. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 23p. 2002.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. Fisiologia da produção de milho. **Circular técnica EMBRAPA**, v.76, p. 1-10, 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants, Second Edition**. Academic Press, London. 1995.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants, Third Edition**. Academic Press, London. 2012.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659–668, 2000.

MENGEL K.; KIRKBY E.A. **Principles of plant nutrition**. Dordrecht, NL: Kluwer Academic Publishers, 2001.

MOSHELION, M.; MORAN, N. Potassium-efflux channels in extensor and flexor cells of the motor organ of *Samanea saman* are not identical: Effects of cytosolic calcium. **Plant Physiology**, v.124, p. 911–919, 2000.

MOTT, K.A. 1988. Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular? **Plant Physiology**, v.86, p.200–203, 1988.

MULLER, P.; LI, X.P.; NIYOGI, K.K. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1558–1566, 2001.

OXBOROUGH, K.; BAKER, N.R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and nonphotochemical components—calculation of qP and Fv/Fm without measuring Fo. **Photosynthesis Research**, v. 54, p. 135–142, 1997.

PAL, D.K.; SRIVASTAVA P.; DURGE, S.L.; BHATTACHARYYA, T. Role of weathering of fine-grained micas in potassium management of Indian soils. **Applied Clay Science** v.20, p.39–52, 2001.

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

PETTIGREW, W.T. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. **Physiologia Plantarum**, v.133, p.670–681, 2008.

PHILIPPAR, K.; FUCHS, I.; LÜTHEN, H.; HOTH, S.; BAUER, C.S.; HAGA, K. Auxin-induced K⁺ channel expression represents an essential step in coleoptile growth and gravitropism. **PNAS**, v.96 p.12186–12191, 1999.

PICK, T.R., BRÄUTIGAM, A.; SCHLÜTER, U.; DENTON, A.K.; COLMSEE, C.; SCHOLZ, U.; FAHNENSTICH, H.; PIERUSCHKA, R.; RASCHER, U.; SONNEWALD, U.; WEBER, A.P. Systems analysis of a maize leaf developmental gradient redefines the current C₄ model and provides candidates for regulation. **The Plant Cell**, v. 23, p. 4208–4220, 2011.

PIER, P.; BERKOWITZ, G.A. Modulation of water stress affects on photosynthesis by altered leaf K⁺. **Plant Physiology**, v. 85, p. 655-661, 1987.

PILOT, G.; GAYMARD, F.; MOULINE, K.; CHEREL, I.; SENTENAC H. Regulated expression of Arabidopsis shaker K⁺ channel genes involved in K⁺ uptake and distribution in the plant. **Plant Molecular Biology**, v.51 p.773–787, 2003.

PILOT, G.; LACOMBE, B.; GAYMARD, F.; CHEREL, I.; BOUCHEREZ, J.; THIBAUD, J.B.; SENTENAC, H. Guard cell inward K⁺ channel activity in arabidopsis involves expression of the twin channel subunits KAT1 and KAT2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, p.3215-3221, 2001.

POORTER, H.; NIINEMETS, Ü.; POORTER, L.; WRIGHT, I.J.; VILLAR, R. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. **New Phytologist**, v. 182, p. 565–588. 2009.

PREUSSER, E.; KHALIL, F.A.; GÖRING, H. Regulation of activity of the granule-bound starch synthetase by monovalent cations. **Biochemical Physiology Pflanz**, v. 176, p. 744-752, 1981.

QI, Z.; HAMPTON, C.R.; SHIN, R.; BARKLA, B.J.; WHITE, P.J.; SCHACHTMAN, D.P. The high affinity K⁺ transporter AtHAK5 plays a physiological role in planta at very low K⁺ concentrations and provides a cesium uptake pathway in Arabidopsis. **Journal Experimental Botany**, v.59, p.595–607, 2008.

REDDY, K.R.; ZHAO, D. Interactive effects of elevated CO₂ and potassium deficiency on photosynthesis, growth, and biomass partitioning of cotton. **Field Crops Research** v.94, p.201-213, 2005.

REGGIANI, R.; AURISANO, N.; MATTANA, M.; BERTANI, A. Influence of K⁺ ions on polyamine level in wheat seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 141, p. 136-140, 1993.

REID, C.D.; TISSUE, D.T.; FISCUS, E.L.; STRAIN, B.R. Comparison of spectrophotometric and radioisotopic methods for the assay of Rubisco in ozone-treated plants. **Physiologia Plantarum**, v. 101, p. 398-404, 1997.

REINTANZ, B.; SZYROKI, A.; IVASHIKINA, N.; ACHE, P.; GODDE, M.; BECKER, D.; PALME, K.; HEDRICH, R. AtKC1, a silent Arabidopsis potassium channel alpha - subunit modulates root hair K⁺ influx. **PNAS**, v. 99, p. 4079-4084, 2002.

ROBIN, P. Etude de quelques conditions d'extraction de la nitrate réductase des racines et des feuilles de plantules de maïs. **Physiologie Végétale**, v. 17, p. 45-54, 1979.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; RUBIO, F. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 1149-1160, 2006.

ROELFSEMA, M.R.; HEDRICH, R. In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. **New Phytologist**, v. 167, p. 665–691, 2005.

ROITSCH, T.; EHNE, R.; GOETZ, M.; HAUSE, B.; HOFMANN, M.; KRISHNA SINHA, A. Regulation and function of extracellular invertase from higher plants in relation to assimilate partitioning, stress responses and sugar signalling. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 815–825, 2000.

ROITSCH, T.; GONZALES, M. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 606–613, 2004.

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

ROS, R.; LEMAILLET, G.; FONROUGE, A.G.; DARAM, P.; ENJUTO, M.; SALMON, J.M.; THIBAUD, J.B.; SENTENAC, H. Molecular determinants of the *Arabidopsis* AKT1 K⁺ channel ionic selectivity investigated by expression in yeast of randomly mutated channels. **Physiologia Plantarum**, v.105, p. 459–468, 1999.

SAGE, R. E.; SHARKEY, T D.; SEEMANN, J. R. The in vivo response of the ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase activation state and the pool sizes of photosynthetic metabolites to elevated CO₂ in *Phaseolus vulgaris* L. **Planta**, v. 174, p. 407-416, 1988.

SAGE, R.F. The evolution of C₄ photosynthesis. **New Phytologist**, v. 161, p. 341–370, 2004.

SAGE, R.F.; LI, M.; MONSON, R.K. The taxonomic distribution of C₄ photosynthesis. *In*: SAGE, R.F.; MONSON, R.K. **C₄ Plant Biology**. San Diego: Academic, p. 551–585, 1999.

SAGE, R.F.; SAGE, T.L.; KOCACINAR, F. Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p.19–47, 2012.

SANTA-MARIA, G.E.; RUBIO, F.; DUBCOVSKY, J.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. The HAK1 gene of barley is a member of a large gene family and encodes a high-affinity potassium transporter. **Plant Cell**, v.9, p.2281–2289, 1997.

SCHACHTMAN, D.P.; SCHROEDER, J.I.; LUCAS W.J.; ANDERSON, J.A.; GABER, R.F. Expression of an inward rectifying potassium channel by the *Arabidopsis* KAT1 cDNA. **Science**, v. 258, p.1654–1658, 1992.

SCHACHTMAN, D.P.; SHIN, R. Nutrient sensing and signaling: nPKS. **Annual Review of Plant Biology**, v.58, p.47–69, 2007.

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.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: SCHULZE, E.D.; CALDWELL, M.M. (Ed.). **Ecophysiology of photosynthesis**. Springer, Berlin p. 49-70. 1995.

SCHROEDER, D. Structure and weathering of potassium containing minerals. In: Proc. **11th Congr. Int. Potash Inst.**, 1978.

SCHROEDER, J.I.; ALLEN, G.J.; HUGOUVIEUX, V.; KWAK J.M.; WANER D. Guard cell signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.52, p.627–658, 2001.

SEN GUPTA, A.; BERKOWITZ G.A.; PIER, P.A. Maintenance of photosynthesis at low leaf water potential in wheat: Role of potassium status and irrigation history. **Plant Physiol**, v. 89, p.1358–1365, 1989.

SHIN, R. Transcriptional regulatory components responding to macronutrient limitation. **Journal of Plant Biolgy**, v.54, p. 286–293, 2011.

SHIN, R.; SCHACHTMAN, D.P. Hydrogen peroxide mediates plant root cell response to nutrient deprivation. **PNAS**, v.101, p.8827–8832, 2004.

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.

SKÓRZYŃSKA-POLIT, E.; BASZYŃSKI, T. Photochemical activity of primary leaves in cadmium stressed *Phaseolus coccineus* depends on their growth stages. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 64, 1995. p. 273–279.

SMIL, V. Crop residues: agriculture's largest harvest. **Bioscience**, v.49, p. 299–308, 1999.

SNELL, F.D.; SNELL, C.T. **Colorimetric methods of analysis**. New York: Van Nostrand, v. 2, 793p. 1949.

SPALDING, E.P.; HIRSCH, R.E.; LEWIS, D.R.; QI Z.; SUSSMAN M.R.; LEWIS B.D. Potassium uptake supporting plant growth in the absence of AKT1 channel activity: inhibition by ammonium and stimulation by sodium. **Journal of Gene Physiology**, v. 113, p. 909–918, 1999.

SPARKS, D.L. Potassium dynamics in soils. **Advances in Soil Science**, v.6, p.1–63, 1987.

STILL, C.J.; BERRY, J.A.; COLLATZ, G.J.; DEFRIES, R.S. Global distribution of C₃ and C₄ vegetation: carbon cycle implications. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 17, p. 1006–1030, 2003.

SUN, W.; UBIERNA, N.; MA, J-Y.; COUSINS, A.B. The influence of light quality on C₄ photosynthesis under steady-state conditions in *Zea mays* and *Miscanthus × giganteus*: changes in rates of photosynthesis but not the efficiency of the CO₂ concentrating mechanism. **Plant, Cell and Environment**, v. 35, p. 982–993, 2012.

SZCZERBA, M.W.; BRITTO, D.T.; ALI, S.A.; BALKOS, K.D.; KRONZUCKER, H.J. NH₄⁺-stimulated and -inhibited components of K⁺ transport in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p.3415-3423, 2008.

SYERS, J.K.; SHELDRIK, W.F.; LINGARD, J. Nutrient depletion in Asia: how serious is the problem? In: **Proceedings of the 12th World Fertilizer Congress of the CIEC**, 2001.

TACHIMOTO, M.; FUKUTOMI, M.; MATSUCHIRO, H.; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, E. Role of putrescine in Lemna plants under potassium deficiency. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 38, p. 307-313, 1992.

TESTER, M.; BLATT, M.R. Direct measurement of K⁺ channels in thylakoid membranes by incorporation of vesicles planar lipid bilayers. **Plant Physiology**, v. 91, p. 249-252, 1989.

THIEL, G.; WOLF, A.H. Operation of K⁺ channels in stomatal movement. **Trends in Plant Science**, v.2, p.339–345, 1997.

TOLLENAAR, M.; DWYER, L.M.; Physiology of Maize. In: SMITH, D.L.; HAMEL, C. (Ed). **Crop yield, physiology and processes**. Berlin: Springer-Verlag, cap. 5, p. 169-201, 1999.

TSONEV, T.; VELIKOVA, V.; YILDIZ-AKTAS L.; GUREL A.; EDREVA, A. Effect of water deficit and potassium fertilization on photosynthetic activity in cotton plants. **Plant Biosystems**, v. 145, p. 841–847, 2011.

USDA, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World corn production, consumption, and stocks**. 2014. Disponível em: <<http://www.das.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?>>. Acesso em 28 de Dezembro de 2014.

VOELKER, C.; SHMIDT, D.; MUELLER-ROABER, B.; CZEMPINSKI, K. Members of the *Arabidopsis* AtTPK/KCO family form homomeric vacuolar channels in plants. **Plant Journal**, v. 48, p. 296-306, 2006.

von CAEMMERER, S. **Biochemical models of leaf photosynthesis**. Collingwood: CSIRO Publishing, 165 p., 2000.

WACLAWOVSKY, A.J.; LOUREIRO, M.E.; FREITAS, R.D.; ROCHA, C.D.; CANO, M.A.; FONTES, E.P. Evidence for the sucrose-binding protein role in carbohydrate metabolism and transport at early developmental stage. **Physiologia Plantarum**, v. 128, p. 391–404. 2006.

WALKER, D.J.; LEIGH, R.A.; MILLER, A.J. Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. **PNAS**, v.93, p.10510-10514, 1996.

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

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974. 1967.

WEDEPOHL, K.H. The composition of the continental crust. **Geochim Cosmochim Acta**, v.59, p.1217–1232, 1995.

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.

WU, W.; PETERS, J.; BERKOWITZ, G.A. Surface charge-mediated effects of Mg²⁺ on K⁺ flux across the chloroplast envelope are associated with regulation of stromal pH and photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 97, p. 580-587, 1991.

WYN JONES R.J.; Pollard A. Proteins, enzymes and inorganic ions. In: LAUCHLI, A.; PIRSON, A. **Encyclopedia of Plant Physiology**. Springer, p. 528–562, 1983.

YAO, W.; HADJEB, N.; BERKOWITZ, G.A. Molecular cloning and characterization of the first plant K(Na)/proton antiporter. **Plant Physiology**, v.114 p. 200, 1997

YEMM, E. W.; COCKING, E. F. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

ZACHOS, J.C.; DICKENS, G.R.; ZEEBE, R.E. An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon-cycle dynamics. **Nature**, v. 451, p. 279–283, 2008.

ZAIDA, A.; PEREZ-HORMAECHE, J; LEIDI E.O. Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake. **PNAS**, v. 111, p. 1806-1814, 2014.

ZANETTI, M.; TEARDO, E.; LA ROCCA, N.; ZULKIFLI, L.; CHECCHETTO, V.; SHIJUKU, T.; SATO, Y.; GIACOMETTI, G.M.; UOZUMI, N.; BERGANTINO, E.; SZABÓ, I. A novel potassium channel in photosynthetic cyanobacteria. **PLoS One**. v. 12, p.10118, 2010.

ZHAO, D.; OOSTERHUIS, D.M.; BEDNARZ, C.W. Influence of potassium deficiency on photo-synthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultrastructure of cotton plants. **Photosynthetica**, v. 39, p.103–109, 2001.

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