

TROCAS GASOSAS EM *VITIS VINIFERA* SOB REGIME DE ESTRESSE HÍDRICO. III. ÁCIDO ABCSÍCICO E COMPORTAMENTO VARIETAL¹

MURILLO DE ALBUQUERQUE REGINA² e ALAIN CARBONNEAU³

RESUMO - O efeito da aplicação de um estresse hídrico sobre a regulação das trocas gasosas e acúmulo do ácido abscísico (ABA) em folhas de diferentes cultivares de *Vitis vinifera* L. foi analisado com o objetivo de caracterizar o comportamento varietal e identificar um marcador para as diferentes formas de resposta. Foram utilizadas plantas de dois anos, enxertadas sobre 'Fercal', plantadas em vasos de plástico e cultivadas sob condições controladas. A aplicação de um estresse hídrico de longa duração (20 dias) revelou dois grupos de cultivares com diferentes sensibilidades ao nível das trocas gasosas. Os teores de ABA das folhas estiveram associados ao funcionamento dos estômatos, mostrando que as cultivares mais sensíveis apresentam os menores teores de ABA nas plantas-testemunha, e os maiores acúmulos deste hormônio nas plantas estressadas.

Termos para indexação: fotossíntese, movimento estomático, videira.

GAS EXCHANGES IN *VITIS VINIFERA* UNDER WATER STRESS REGIME. III. ABSCISIC ACID AND VARIETAL BEHAVIOR

ABSTRACT - The effect of water stress on the regulation of gas exchange and on the accumulation of abscisic acid (ABA) in the leaves of different cultivars of *Vitis vinifera* L. has been analysed with the purposes of characterizing the varietal behavior and of identifying a marker for the different forms of response. Two-year old plants grafted on 'Fercal', planted in plastic pots and cultivated under controlled conditions were used. Long period of water stress (20 days) revealed two groups of cultivars with different sensitivities at the gas exchange level. The ABA content of the leaves was related to the functioning of the stomata, showing that the most sensitive cultivars presented the lowest contents of ABA in the test plants, whereas the greatest accumulations of this hormone occurred in the stressed plants.

Index terms: grapevine, photosynthesis, stomatal movement.

INTRODUÇÃO

Dentre as inúmeras funções atribuídas ao ácido abscísico (ABA) nos vegetais, sabe-se de sua importância particular como hormônio regulador do funcionamento dos estômatos, nas situações de estresse hídrico (During & Alleweldt, 1973; During,

1974, 1992; Broquedis, 1987a; Broquedis & Bouard, 1989).

Sua acumulação nas células de guarda induz ao fechamento progressivo dos estômatos, reduzindo assim as perdas de água por transpiração e permitindo as plantas suportarem as situações de déficit hídrico (Livine & Vaadia, 1972; During & Scienza, 1980).

Segundo Loveys (1977) e Brinckmann et al. (1990), o ABA, que se encontra normalmente acumulado nos cloroplastos do mesófilo das folhas, principal local de sua síntese, quando da intervenção do estresse hídrico migra para as células da epiderme. Esta migração provoca o acúmulo de ion K⁺ nas células de guarda, como forma de manter uma pressão osmótica elevada.

Recentemente, vários trabalhos têm demonstrado que o ABA atua também como emissor de sinais

¹ Aceito para publicação em 2 de dezembro de 1996.

Extraído da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade de Bordeaux II, França, em 1993. Financiada pelo CNPq/Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

² Eng. Agr., Dr., EPAMIG, Av. Santa Cruz 500, Caixa Postal 33, CEP 37780-000 Caldas, MG. Bolsista do CNPq.

³ Eng. Agr., Dr., ENSAM/INRA, Domaine du Chapitre 170, rue du Chapitre, BP. 13, 34750 Villeneuve-lès-Maguelonne, France.

radiculares, transmitindo à parte aérea as primeiras evidências de falta d'água captadas pelas raízes das plantas (Tardieu et al., 1991, 1992, 1993; Gowing et al., 1993; Tardieu & Davies, 1993). Estes sinais radiculares, emitidos graças ao aumento da concentração do ABA nos vasos do xilema, permitem às plantas responderem às mudanças das condições de extração da água do solo, e encontram-se estreitamente relacionados com a redução da abertura dos estômatos e da atividade fotossintética das folhas de plantas não irrigadas (During, 1992).

No caso específico da videira, vários trabalhos têm comprovado a relação existente entre esse hormônio e a regulação das trocas gasosas foliares (Liu et al., 1978; Loveys, 1984a, 1984b; Downton et al., 1988), e admite-se também que as diferentes capacidades varietais de síntese e translocação desse hormônio podem revelar diversas formas de adaptação das cultivares ao estresse hídrico (Fregoni et al., 1978; During & Broquedis, 1980; Scienza et al., 1980).

Neste contexto, a dosagem dos teores de ABA, aqui associada às medições das trocas gasosas das folhas de algumas cultivares de videira, submetidas a um regime de estresse hídrico, foi efetuada com o objetivo de avaliar esse hormônio como marcador hormonal das diferentes respostas verificadas na condutância estomática, e da atividade fotossintética.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na "Station de Recherches en Viticulture" do INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) de Bordeaux, França, durante os anos de 1991 a 1993.

As cultivares selecionadas por causa de suas diferenças de comportamento agrônomico e diversidade ecológica foram: 'Chardonnay', 'Moscatel de Alexandria', 'Sémillon', e 'Ugni Blanc'. Foram utilizadas plantas de dois anos de idade, enxertadas sobre 'Fercal', plantadas em vasos de plástico de 7 litros em substrato composto de perlita e areia (3:1 v/v) e fertilizadas com uma solução nutritiva adicionada à água de irrigação.

O ensaio foi conduzido no interior de um fitotron de 20,2 m³, com condições controladas, onde foram pré-determinadas as seguintes condições ambientais:

Temperatura do ar diurna/noturna = 25/15°C; umidade relativa do ar diurna/noturna = 50/60%; radiação

fotossinteticamente ativa = 900 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo = 16 horas.

Logo após a poda de inverno os vasos foram instalados no interior do fitotron com possibilidade de controle do volume da água de irrigação por meio de gotejadores. O regime de estresse hídrico foi aplicado por redução do nível diário de irrigação a 50% da transpiração máxima (TM), verificada em plantas-testemunha de superfície foliar similar. A irrigação das plantas submetidas ao estresse foi efetuada sempre ao final da tarde, após as medições de fotossíntese, de forma a permitir uma reidratação parcial das plantas durante a noite, e as testemunhas foram irrigadas de forma homogênea durante todo o dia. Foram utilizadas quatro plantas por cultivar, sendo duas para cada nível de irrigação (testemunha e 50% da transpiração).

Para verificação da atividade fotossintética das plantas durante a aplicação do estresse hídrico, foram realizadas medições das trocas gasosas em folhas isoladas, com o auxílio de um analisador portátil de CO₂ a infra-vermelho trabalhando em circuito aberto (ADC mod. LCA3). Para tanto foram selecionadas folhas adultas, de mesma idade, bem expostas (luminosidade saturante) e situadas na parte mediana do ramo principal. As medições de fotossíntese foram distribuídas em horários uniformes, onde as cultivares eram amostradas aleatoriamente, de forma a obter-se a curva do comportamento fotossintético de cada genótipo ao longo do dia de aplicação do estresse hídrico. Para cada horário os valores representados referem-se a uma média de quatro medições por variedade.

As folhas utilizadas para a dosagem do ABA foram coletadas no mesmo nível dos sarmentos daquelas empregadas para as medições das trocas gasosas, e no vigésimo primeiro dia após o início da aplicação do estresse hídrico. Foram escolhidas cinco folhas por tratamento durante a terceira hora do fotoperíodo. Imediatamente após a sua coleta, as folhas foram armazenadas em nitrogênio líquido (-186°C), antes de serem liofilizadas a vácuo durante 78 horas. A extração da forma livre do ácido abscísico (ABA-livre), e da forma conjugada, ou abscissato de β -D-glucopiranosídeo (ABA-GE), foi feita por diálise e a dosagem por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), segundo os métodos propostos por Broquedis (1987b).

O ensaio foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro cultivares e dois níveis de irrigação. Cada parcela foi representada por duas plantas úteis, e cada valor das trocas gasosas por quatro medições em folhas diferentes e previamente escolhidas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o emprego do programa STATITCF. Para

as dosagens do ácido abscísico não foi possível efetuar repetições de cada tratamento, por causa do tempo excessivo (40 horas) gasto na extração de cada amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 são representados os resultados das trocas gasosas das folhas de um grupo de cultivares de videira submetidas a um regime de estresse hídrico em condições controladas. No vigésimo dia de aplicação do regime de estresse hídrico, pôde-se observar que as plantas estressadas de todas as cultivares tiveram reduzidas a condutância estomática e a taxa de assimilação fotossintética com relação aos valores observados nas plantas-testemunha. Entretanto, as diferenças de comportamento das cultivares foram bem visíveis já a partir das primeiras horas do fotoperíodo, e mantiveram-se praticamente uniformes durante todo o período de medição. Os valores da condutância estomática, característicos das situações de estresse hídrico da videira, definiram, entretanto, dois grupos estatisticamente distintos, um mais adaptado, com valores mais elevados, formado pelas cultiva-

res Chardonnay e Moscatel de Alexandria, e outro, sensível, composto pelas Sémillon e Ugni Blanc. A atividade fotossintética ajustou-se de forma similar à condutância estomática, mantendo-se, para as cultivares mais adaptadas, estável, e próxima dos $7,0 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, até a quarta hora do fotoperíodo, reduzindo-se em seguida para valores próximos de $5,0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Por outro lado, as cultivares Sémillon e Ugni Blanc mostraram-se extremamente sensíveis ao estresse hídrico, com taxas de fotossíntese próximas a $2,0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ durante todo o período de medição, sendo estatisticamente inferiores às das outras duas cultivares.

A dosagem do ABA foi efetuada em folhas coletadas no dia seguinte ao da realização dessas medições das trocas gasosas, e durante a terceira hora do fotoperíodo, momento em que as cultivares estudadas revelaram maiores diferenças de comportamento em face do estresse hídrico.

Pode-se observar, na Fig. 1, que os teores do ABA das folhas aumentaram sistematicamente com o tratamento estresse hídrico. Entretanto a intensidade deste aumento foi bastante variável entre as cultiva-

TABELA 1. Condutância estomática ($\mu\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) das folhas de quatro cultivares de videira, segundo dois níveis de irrigação em condições controladas¹.

Cultivar	Condutância estomática ($\mu\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
	Testemunha	Estresse hídrico				
		1:30	2:30	3:30	6:00	7:00
Chardonnay	0,30	0,12a	0,10a	0,09a	0,07a	0,06ab
M. Alexandria	0,26	0,09a	0,09a	0,10a	0,07a	0,08a
Sémillon	0,27	0,06b	0,05b	0,05b	0,05a	0,04b
Ugni Blanc	0,21	0,05b	0,05b	0,04b	0,04a	0,04b

¹ Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de NEWMAN H. KEULS ($p = 0,05$).

TABELA 2. Taxa de assimilação fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) das folhas de quatro cultivares de videira, segundo dois níveis de irrigação em condições controladas¹.

Cultivar	Taxa de assimilação fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
	Testemunha	Estresse hídrico				
		1:30	2:30	3:30	6:00	7:00
Chardonnay	14,9	7,5a	6,9a	6,4a	4,4a	3,9a
M. Alexandria	11,3	6,2a	6,5a	6,4a	5,4a	4,5a
Sémillon	10,3	3,6b	2,8b	2,0b	1,5b	1,4b
Ugni Blanc	11,5	2,2b	2,1b	2,0b	1,5b	1,8b

¹ Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de NEWMAN H. KEULS ($p = 0,05$).

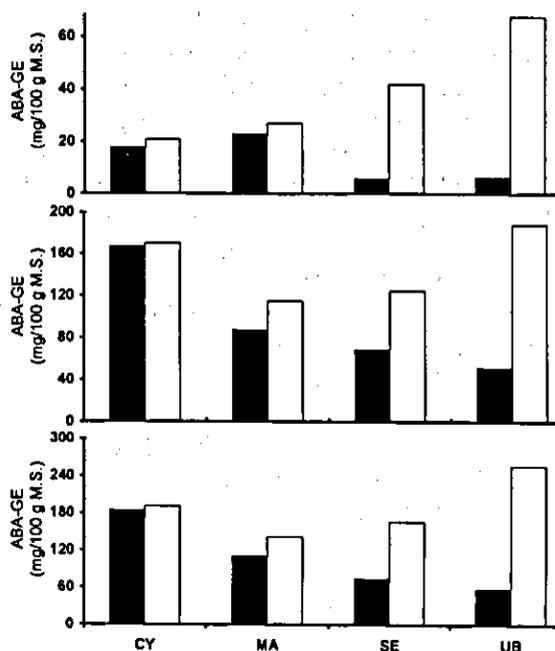


FIG. 1. Teores em ácido abscísico (ABA) das folhas de quatro cultivares de videira, (CY = Chardonnay, MA = Moscatel de Alexandria, SE = Sémillon, UB = Ugni Blanc) segundo dois níveis de irrigação em condições controladas (■ Testemunha, □ Estresse hídrico).

res. Primeiramente, no tocante ao ABA-livre, forma ativa deste hormônio, verificou-se que os teores mais baixos, observados nas plantas-testemunha das cultivares Sémillon (5,9 $\mu\text{g}/100\text{ g M.S.}$) e Ugni Blanc (6,5 $\mu\text{g}/100\text{ g MS}$), aumentaram com o tratamento estresse hídrico, atingindo diferenças máximas entre cultivares nos dois níveis de irrigação. Por outro lado, estas diferenças foram inferiores na 'Chardonnay' e na 'Moscatel de Alexandria', nas quais as plantas-testemunha já possuíam os teores mais elevados em ABA de 17,9 e 23 $\mu\text{g}/100\text{ g MS}$, respectivamente.

À exceção da cultivar Chardonnay, as variações da forma de estocagem do ácido abscísico (ABA-GE) também foram positivas no tratamento estresse hídrico. Da mesma forma que ocorreu com o ABA-livre, as diferenças foram mais elevadas nas cultivares Ugni Blanc e Sémillon que apresentaram os teores mais baixos (51,8 e 68,8 $\mu\text{g}/100\text{ g MS}$, respectivamente), nas plantas-testemunha.

Analisando a soma das duas formas do ABA, observou-se que dois grupos foram distinguidos: um primeiro, formado pela 'Chardonnay', e, em menor escala, pela 'Moscatel de Alexandria', caracterizadas por apresentarem ao mesmo tempo os teores mais elevados de ABA-total nas folhas das plantas-testemunha e as menores variações entre os dois níveis de irrigação. As cultivares Sémillon e Ugni Blanc constituíram um segundo grupo, com os teores mais baixos do ABA nas folhas das plantas irrigadas, e as maiores variações nas plantas estressadas.

Constatou-se, então, que, à exceção na cultivar Ugni Blanc, que apresentou os teores em ABA-total sensivelmente superiores aos das demais cultivares, as concentrações absolutas deste hormônio no tratamento estresse hídrico foram próximas entre as cultivares. Por outro lado, o fato que melhor traduziu as especificidades de comportamento foram as diferentes intensidades de variação das duas formas do ABA entre os dois níveis de irrigação. Há que se ressaltar, também, que as maiores variações observadas na 'Ugni Blanc' e 'Sémillon' referiram-se ao ABA-livre.

A dosagem dos teores do ABA das folhas e as medições de suas variações diárias das trocas gasosas mostraram que esses dois parâmetros encontram-se relacionados na manifestação de diferentes níveis de sensibilidade varietal à aplicação do estresse hídrico. Os resultados obtidos traduziram duas formas de resposta: de um lado, as cultivares mais sensíveis ao estresse hídrico, Sémillon e Ugni Blanc, que revelaram as maiores reduções da condutância estomática e da assimilação fotossintética. Elas foram igualmente caracterizadas por mostrar os mais baixos teores do ABA nas folhas das plantas-testemunha e maiores aumentos desse hormônio nas plantas estressadas. Por outro lado, as cultivares Chardonnay e Moscatel de Alexandria, que conservaram maiores intensidades das trocas gasosas sob regime de estresse hídrico, mostraram, ao mesmo tempo, os teores mais elevados de ABA nas folhas das plantas-testemunha, e as menores variações em teores desse hormônio entre os dois níveis de irrigação. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Larque-Saavedra & Wain (1974), nas variedades de milho com diferentes níveis de sensibilidade à seca.

Com base nos resultados, pode-se supor que os efeitos da acumulação do ABA sobre a regulação dos estômatos evoluem durante a intervenção de um regime de estresse hídrico. As diferentes formas de adaptação ao estresse hídrico poderiam então estar associadas ao fato de que, no decorrer do tempo, os estômatos podem modificar suas reações, dada a presença constante de teores elevados de ABA. Tal hipótese poderia explicar o fato de que as cultivares capazes de manter seus estômatos abertos em condições de estresse hídrico ('Chardonnay' e 'Moscatel de Alexandria') tenham sido as que apresentaram as concentrações mais elevadas de ABA em condições normais de irrigação. Evidentemente, a dosagem do ABA executada de forma pontual e em um estágio preciso da intervenção do estresse hídrico não permite a confirmação desta hipótese, que merece, entretanto, ser testada por meio de estudos dinâmicos da interação deste hormônio nas folhas e nos vasos do xilema, com as trocas gasosas foliares em genótipos que possuam diferentes capacidades adaptativas ao estresse hídrico.

CONCLUSÕES

1. Os teores do ABA das folhas de videira sujeita a regime de redução da disponibilidade de água do solo, constituem bons indicadores das diferenças de comportamento entre cultivares.

2. As maiores reduções da condutância estomática e da assimilação fotossintética estão associadas aos maiores aumentos do ABA nas folhas das plantas estressadas.

3. As plantas das cultivares Ugni Blanc e Sémillon são mais sensíveis à redução da umidade do solo, e têm menores níveis de ABA nas plantas plenamente irrigadas e os maiores teores desse hormônio nas plantas em solo com umidade reduzida, do que as plantas das cultivares Chardonnay e Moscatel de Alexandria nas mesmas condições de solo.

REFERÊNCIAS

- BRINCKMANN, E.; HARTUNG, W.; WARTINGER, M. Abscisic acid levels of individual leaf cells. *Physiologia Plantarum*, v.80, p.51-54, 1990.
- BROQUEDIS, M. L'acide abscissique et l'abscissate de β -D-glucopyranose dans le développement des baies des raisins, la germination des pépins et la formation des racines sur les boutures de vigne. Bordeaux: Université de Bordeaux I, 1987a. 225p. These pour le Doctorat.
- BROQUEDIS, M. Utilisation de la dialyse et de la chromatographie ultra-rapide pour le dosage de l'acide abscissique: application à la vigne. *Vitis*, v.26, p.19-26, 1987b.
- BROQUEDIS, M.; BOUARD, J. L'acide abscissique dans différents aspects de la physiologie de la Vigne. *Connaissance de la Vigne et du Vin - Aspects Actuels de la Viticulture*, n. Hors Série, p.89-94, 1989.
- DOWNTON, W.J.S.; LOVEYS, B.R.; GRANT, W.J.R. Stomatal closure fully accounts for the inhibition of photosynthesis by abscisic acid. *New Phytologist*, v.108, p.263-266, 1988.
- DURING, H. Abscisinsäure in reifenden Weinbeeren. *Vitis*, v.13, p.112-119, 1974.
- DURING, H. Gas exchange of grapevines leaves as affected by soil factors. In: SIMPOSIUM INTERNATIONAL SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA VIGNE, 4., 1992, San Michel All'adige. *Comptes Rendus...* San Michell All'adige:[s.n.], 1992. p.295-298.
- DURING, H.; ALLEWELDT, G. Der Jahresgang der Abscisinsäure in vegetativen Organen von Reben. *Vitis*, v.12, p.26-32, 1973.
- DURING, H.; BROQUEDIS, M. Effects of abscisic acid and benzyladenine on irrigated and non-irrigated grapevines. *Scientia Horticulturae*, v.13, p.253-260, 1980.
- DURING, H.; SCIENZA, A. Drought resistance of some *Vitis* species and cultivars. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GRAPE BREEDING, 3., 1980, Davies. *Proceedings...* Davies: [s.n.], 1980. p.179-190.
- FREGONI, M.; SCIENZA, A.; MIRAVALLE, R. Evaluation précoce de la résistance des porte-greffes à la sécheresse. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR L'AMELIORATION DE LA VIGNE, 2., 1978, Bordeaux. *Compte Rendus...* Bordeaux: [s.n.], 1978. p.287-296.
- GOWING, D.J.G.; JONES, H.G.; DAVIES, W.J. Xylem-transported abscisic acid: the relative importance

- of its mass and its concentration in the control of stomatal aperture. **Plant, Cell and Environment**, v.16, p.453-459, 1993.
- LARQUE-SAAVEDRA, A.; WAIN, R.L. Abscisic acid levels in relation to drought tolerance in varieties of *Zea mays* L. **Nature**, v.251, p.716-771, 1974.
- LIU, W.T.; POOL, R.; WENKERT, W.; KRIEDEMANN, P.E. Changes in photosynthesis, stomatal resistance and abscisic acid of *Vitis labruscana* through drought and irrigated cycles. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.29, p.239-246, 1978.
- LIVINE, A.; VAADIA, Y. Water deficits and hormones relations In: KOZLOWSKI (Ed.). **Water deficits and plant growth**. Wisconsin: [s.n.], 1972. v.3, p.258-273.
- LOVEYS, B.R. Abscisic acid transport and metabolism in grapevine (*Vitis vinifera* L.). **New Phytologist**, v.98, p.575-582, 1984a.
- LOVEYS, B.R. Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars: III. The influence of xylem-derived abscisic acid on leaf gas exchange. **New Phytologist**, v.98, p.563-573, 1984b.
- LOVEYS, B.R. The intracellular location of abscisic acid in stressed and non-stressed leaf tissue. **Physiologia Plantarum**, v.40, p.6-10, 1977.
- SCIENZA, A.; FREGONI, M.; BOSELLI, M. Influenza del portinnesto sulla resistenza stomatica, sul potenziale idrico e sul contenuto di acido abscisico di foglie di "Barbera". **Vignevini**, v.1, p.39-44, 1980.
- TARDIEU, F.; DAVIES, W.J. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. **Plant, Cell and Environment**, v.16, p.341-349, 1993.
- TARDIEU, F.; KATERJI, N.; BETHENOD, O.; ZHANG, J.; DAVIES, N.J. Maize stomatal conductance in the field: its relationship with soil and plant water potentials, mechanical constraints and ABA concentration in the xylem sap. **Plant, Cell and Environment**, v.14, p.121-126, 1991.
- TARDIEU, F.; ZHANG, J.; BETHENOD, O.; PALMER, S.; DAVIES, W.J. Xylem ABA controls the stomatal conductance of field-grown maize subjected to soil compactation or soil drying. **Plant, Cell and Environment**, v.15, p.193-197, 1992.
- TARDIEU, F.; ZHANG, J.; GOWING, D.J.G. Stomatal control by [ABA] in the xylem sap and leaf water status: a test of a model for droughted or ABA field-grown maize. **Plant, Cell and Environment**, v.16, p.413-420, 1993.