



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**EVELLINE BERNARDINO GALAZZI**

**DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO DE PLANTAS DE *Jatropha curcas* L.  
CULTIVADAS NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

VITÓRIA  
2011

**EVELLINE BERNARDINO GALAZZI**

**DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO DE PLANTAS DE *Jatropha curcas* L.  
CULTIVADAS NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.  
Orientador: Prof<sup>a</sup> Diolina Moura Silva  
Co-orientador: Prof<sup>a</sup> Renata Venturim  
Fontes

VITÓRIA

2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

G147d Galazzi, Evelline Bernardino, 1981-  
Desempenho fotossintético de plantas de *Jatropha curcas* L.  
cultivadas no Estado Espírito Santo / Evelline Bernardino  
Galazzi. – 2011.  
60 f. : il.

Orientadora: Diolina Moura Silva.  
Coorientadora: Renata Fontes Venturim.  
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e  
Naturais.

1. Crescimento (Plantas). 2. Fluorescência. 3. Pinhão-  
manso. I. Silva, Diolina Moura. II. Venturim, Renata Fontes. III.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

---


# EVELLINE BERNARDINO GALAZZI

## "Desempenho fotossintético de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas no Estado do Espírito Santo"

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 22 de Dezembro de 2011.

### COMISSÃO EXAMINADORA



**Profª Drª Diolina Moura Silva**

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
**Orientadora**

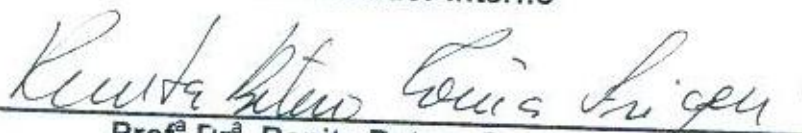


**Profª Drª Renata Venturim Fontes**

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal -UFES  
**Co-orientadora**

**Profª Drª Viviana Borges Corte**

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - UFES  
**Examinador Interno**



**Profª Drª Renita Betero Corrêa Frigeri**

UFRon

**Examinador Externo**

*Dedico aos meus pais, Wanderley e Lilian.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter permanecido ao meu lado durante todo o curso e por ter me dado forças para chegar ao final.

Aos meus pais e aos meus irmãos, pelos princípios morais transmitidos desde sempre que baseiam meu comportamento e minhas atitudes, pelo apoio em todas as decisões da minha vida, por acreditarem em mim, por sempre estarem tão próximos.

Aos meus tios maternos pela preocupação carinhosa e por sempre torcerem por mim, em especial, ao tio Sérgio.

Aos colegas do NEF - Núcleo de Estudos da Fotossíntese, pesquisadores que me acompanharam durante as cansativas viagens de campo; pelo aprendizado constante, muito além do científico.

Ao seu Jacinto e dona Isley, ao Pablo e Diego, por permitirem o desenvolvimento deste estudo em suas fazendas e cuja valiosa ajuda durante o período experimental foi essencial para a qualidade desse estudo.

A empresa Nòvabra Energia ES S.A. pela prontidão em apoiar minha pesquisa e a seus funcionários, por poder contar com eles durante as inúmeras viagens para a coleta de dados.

À Universidade Federal do Espírito Santo, pela oportunidade de me tornar Bióloga.

À Prof<sup>a</sup> Diolina, pela orientação, amizade e compreensão constante; por ter me apresentado a Ciência e me ensinado a produzi-la.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

Neste trabalho foram utilizadas plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), no mesmo estágio de desenvolvimento e sob iguais condições de manejo cultural, cultivadas em duas fazendas comerciais: uma na região norte, litorânea (Pontal do Ipiranga, Linhares) e a outra na região noroeste, montanhosa (Itarana) do Estado do Espírito Santo com o objetivo de avaliar o desempenho fotossintético *in situ*. Foram realizadas medidas durante um ano (maio/2010 a maio/2011) do crescimento, índice de clorofila, trocas gasosas, fluorescência transiente e modulada da clorofila *a*. Análises *in vitro* dos teores de clorofila e da atividade de enzimas antioxidantes também foram realizadas. Os resultados obtidos mostraram que as plantas cultivadas no interior do estado do Espírito Santo apresentaram maior crescimento em altura e maior eficiência real do uso da água ( $A/E$ ). As plantas desta região também apresentaram menor atividade antioxidante (SOD, CAT e APX) em resposta a uma menor produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). As plantas cultivadas no litoral, com solo de menor disponibilidade de nutrientes, apresentaram maiores teores de clorofila *a* e *b*, maiores taxas de fotossíntese líquida ( $A$ ) e maiores índices de desempenho fotoquímico. Infere-se, portanto que as plantas de pinhão manso possuem estratégias adaptativas que lhes permitem viver em ambiente de condições adversas. Além disso, a fluorescência transiente da clorofila *a* mostrou-se eficiente para avaliar o desempenho fotossintético de plantas do pinhão manso cultivadas sob condições de estresse ambientais: hídrico, térmico e nutricional.

**Palavras-chaves:** crescimento, trocas gasosas, fluorescência, pinhão manso

## ABSTRACT

In this work we used plants of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) in the same stage of development and under the same conditions of cultural management, grown in two commercial farms: one in the north coast (Depth of Ipiranga, Linhares) and the other in northwest, mountainous (Itarana) State of the Holy Spirit in order to evaluate the photosynthetic performance in situ. Measurements were carried out over a year (May/2010 to May/2011) growth, chlorophyll content, gas exchange, fluorescence transient and modulated chlorophyll a. In vitro analysis of chlorophyll content and activity of antioxidant enzymes were also performed. The results showed that plants grown in the state of the Holy Spirit had higher growth in real time and greater efficiency of water use ( $A/E$ ). The plants of this region also showed lower antioxidant activity (SOD, CAT and APX) in response to the expected lower production of reactive oxygen species (ROS). Plants grown on the coast, with lower availability of soil nutrients, showed higher levels of chlorophyll a and b, higher rates of net photosynthesis ( $A$ ) and higher rates of photochemical performance. It is inferred therefore that the *Jatropha* plants have adaptive strategies that allow them to live in adverse environmental conditions. In addition, the chlorophyll a fluorescence transient was efficient to evaluate the photosynthetic performance of plants of *Jatropha* grown under environmental stress conditions: water, heat and nutrition.

**Keywords:** growth, gas exchange, fluorescence, *Jatropha*



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Temperaturas máximas, médias e mínimas (°C) e Precipitação média (mm) entre os meses de maio de 2010 a maio de 2011, na região noroeste, montanhosa, interior de Itarana (A) e na região norte, litorânea, litoral de Pontal do Ipiranga, Linhares, ES, (B)..... **06**
- Figura 2** Altura da parte aérea de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo entre 150 e 510 DAP. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (dias), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10)..... **13**
- Figura 3** Diâmetro do caule de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo entre 150 e 510 DAP. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (dias), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10)..... **14**
- Figura 4** Concentrações médias de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e razão clorofila *a/b* em folhas de plantas de *Jatropha curcas* L., cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo. As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10)..... **16**
- Figura 5** A) Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*, μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), B) condutância estomática (*g<sub>s</sub>*, mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e C) eficiência potencial de uso da água (*A/g<sub>s</sub>*, μmol mol<sup>-1</sup>) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. (n=10)..... **18**
- Figura 6** A) Concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*, μmol mol<sup>-1</sup>); B) razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica (*C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>*) e C) eficiência instantânea de carboxilação (*A/C<sub>i</sub>*, μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. (n=10)..... **20**

- Figura 7** A) Transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e B) eficiência real do uso da água ( $A/E$ ,  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ ) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ( $n=10$ ) ..... 21
- Figura 8** Cinética OJIP da fluorescência da clorofila *a* de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior), Itarana, ES. As medidas foram feitas entre 150 e 510 dias após o plantio (DAP). A) Fluorescência variável relativa -  $V_t=(F_t-F_0)/(F_v)$  e B) Diferença cinética da fluorescência  $\Delta V_t=V_{t\text{variável}}-V_{t\text{referência}}$  onde  $V_{t\text{referência}}$  é a fluorescência variável relativa das plantas aos 150 DAP. ( $n=10$ )..... 24
- Figura 9** Cinética OJIP da fluorescência da clorofila *a* de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região norte, litorânea (Litoral), Pontal de Ipiranga/Linhares, ES. As medidas foram feitas entre 150 e 510 dias após o plantio (DAP). A) Fluorescência variável relativa -  $V_t=(F_t-F_0)/(F_v)$  e B) Diferença cinética da fluorescência  $\Delta V_t=V_{t\text{variável}}-V_{t\text{referência}}$  onde  $V_{t\text{referência}}$  é a fluorescência variável relativa das plantas aos 150 DAP. ( $n=10$ )..... 25
- Figura 10** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em razões de fluxo ou de rendimento ( $TR_0/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ ) e razões de fluxo específico ( $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$ ,  $ET_0/RC$  e  $DI_0/RC$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey ( $n=10$ )..... 27
- Figura 11** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em componentes ( $RC/ABS$ ,  $(\phi_{p0}/(1-\phi_{p0}))$ ,  $(\psi_0/(1-\psi_0))$ ,  $(\delta_{R0}/(1-\delta_{R0}))$ ) e índices de performance de uma amostra ( $PI_{ABS}$  e  $PI_{TOTAL}$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey ( $n=10$ )..... 28
- Figura 12** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em razões de fluxo ou de rendimento ( $TR_0/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ ) e razões de fluxo específico ( $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$ ,  $ET_0/RC$  e  $DI_0/RC$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey ( $n=10$ )..... 29
- Figura 13** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em componentes ( $RC/ABS$ ,  $(\phi_{p0}/(1-\phi_{p0}))$ ,  $(\psi_0/(1-\psi_0))$ ,  $(\delta_{R0}/(1-\delta_{R0}))$ ) e índices de performance de uma amostra ( $PI_{ABS}$  e  $PI_{TOTAL}$ ) em

plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10)..... **30**

**Figura 14** Parâmetros de emissão da fluorescência modulada da clorofila *a* em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150 DAP, tendo como controle a região do interior (eixo horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (n=10)..... **33**

**Figura 15** Atividade específica da superóxido dismutase (SOD) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do corante azul de nitro-tetrazólio. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey..... **34**

**Figura 16** Atividade específica da catalase (CAT) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à oxidação de 1  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ . As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ..... **35**

**Figura 17** Atividade específica da peroxidase do ascorbato (APX) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à oxidação de 1  $\text{mmol ASA min}^{-1}$ . As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey..... **36**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Análise química do solo onde foram avaliadas as plantas de <i>J. curcas</i> L., no interior (região noroeste, montanhosa) e no litoral (região norte, litorânea).....	<b>09</b>
<b>Tabela 2</b>	Valores de referência para cada parâmetro analisado, fornecido pelo laboratório de análises agronômicas, para uma cultura perene.....	<b>10</b>

# LISTA DE ABREVIÇÕES

## Parâmetros da Fotossíntese

$A$	Assimilação líquida de $\text{CO}_2$
$A/C_i$	Eficiência instantânea de carboxilação
$A/E$	Eficiência efetiva do uso da água
$A/g_s$	Eficiência potencial do uso da água
$C_i$	Concentração intercelular de $\text{CO}_2$
$C_i/C_a$	Razão entre a concentração intercelular de $\text{CO}_2$ e a concentração atmosférica
$E$	Transpiração
$g_s$	Condutância estomática

## Parâmetros da Fluorescência Transiente

ABS/RC	Fluxo específico de energia absorvida por centro de reação
$D_i/RC$	Fluxo específico de energia dissipada por centro de reação em $t=0$
$ET_0/RC$	Fluxo específico de transporte de elétrons por centro de reação em $t=0$
$ET_0/TR$	Eficiência com o qual um fóton capturado pode mover um elétron na cadeia de transporte de elétrons para além da quinona A reduzida ( $Q_A^-$ )
$PI_{\text{ABS}}$	Índice de desempenho (potencial) para a conservação de energia a partir de fótons absorvidos pelo FSII para a redução de aceitadores de elétrons do intersistema;
$PI_{\text{TOTAL}}$	Índice de desempenho (potencial) para a conservação de energia a partir de fótons absorvidos pelo FSII para a redução de aceitadores finais FSI;
RC/ABS	Densidade de centros de reação ativos do FSII
$TR_0/ABS$	Rendimento quântico máximo do FSII ( $=F_V/F_M$ )
$TR_0/RC$	Fluxo específico de energia capturada por centro de reação em $t=0$
$\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$	Eficiência das reações fotoquímicas do FSII
$\psi_0/(1-\psi_0)$	Eficiência das reações fotoquímicas após a redução de $Q_A^-$
$\delta_{R_0}/(1-\delta_{R_0})$	Eficiência das reações fotoquímicas no FSI

## Parâmetros da Fluorescência Modulada

ETR	Taxa de transporte de elétrons no FSII
$F_0'$	Fluorescência mínima em estado adaptado a luz
$F_M'$	Fluorescência máxima em estado adaptado a luz
$F_V'$	Fluorescência variável em estado adaptado a luz
$F_V'/F_M'$	Eficiência quântica fotoquímica efetiva em estado adaptado a luz
qP	Coefficiente de extinção fotoquímico
$\phi_{\text{PSII}}$	Rendimento quântico efetivo do FSII

# SUMÁRIO

	página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	05
2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS .....	05
2.2. AVALIAÇÕES <i>IN SITU</i> .....	06
2.2.1. Crescimento .....	07
2.2.2. <b>Trocas gasosas</b> .....	07
2.2.3. <b>Cinética de Emissão da Fluorescência Rápida                 ou Polifásica</b> .....	07
2.2.4. <b>Fluorescência da clorofila a com pulso                 modulado</b> .....	09
2.2.5. <b>Análise química do solo</b> .....	09
2.3. AVALIAÇÕES <i>IN VITRO</i> .....	10
2.3.1. <b>Teores de pigmentos fotossintéticos</b> .....	10
2.3.2. <b>Atividade enzimática</b> .....	11
2.3.1.1 Obtenção do extrato bruto .....	11
2.3.1.2 Proteínas totais .....	11
2.3.1.3 Dismutases de Superóxidos (EC 1.15.1.1) .....	11
2.3.1.4 Catalase (EC 1.11.1.6) .....	11
2.3.1.5 Ascorbato Peroxidase (EC 1.11.1.11).....	12
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	13
3.1. CRESCIMENTO .....	13
3.2. TEORES DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS .....	16
3.3. FOTOSSÍNTESE .....	17
3.4. CINÉTICA DE EMISSÃO DA FLUORESCÊNCIA RÁPIDA ..	22
3.4.1. <b>Teste JIP</b> .....	26
3.5. FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A COM PULSO MODULADO .....	31
3.6. ATIVIDADE ESPECÍFICA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES.	33
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	37
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

*Jatropha curcas* L., cujo nome vulgar no Brasil é pinhão-manso, pertence à família das Euforbiáceas, a mesma da mamona e da mandioca. Trata-se de um arbusto grande com crescimento rápido, fácil propagação e vida longa, podendo crescer e sobreviver com poucos cuidados, ou seja, em solos de baixa fertilidade (ARRUDA et al., 2004). Sua altura normal é de dois a três metros, mas pode alcançar até cinco metros em condições especiais (CORTESÃO, 1956). Adapta-se a uma ampla faixa climática com temperaturas médias de 18 a 28,5°C (BELTRÃO; CARTAXO, 2006) e segundo Saturnino et al. (2005) é uma espécie xerófita que sobrevive utilizando a água armazenada no caule após a produção de frutos, entre janeiro e julho, quando então entra em repouso vegetativo, com perda das folhas, até o início das chuvas em outubro, período que começa nova brotação. Suas sementes não comestíveis, e, portanto, não são levadas por pássaros ou animais, possibilitando a sua utilização como cercas vivas (ALVES et al., 2008). Esta espécie pode ser encontrada em quase todas as regiões intertropicais, desde a América Central, China, Índia, Filipinas e Timor Leste, até as zonas temperadas, neste caso, em menor proporção (HELLER, 1996).

O biodiesel atualmente assume um papel importante na economia mundial devido à diminuição das reservas de petróleo e a crescente crise ambiental decorrente da emissão de gases do efeito estufa. A espécie *Jatropha curcas* L. vem se destacando como uma alternativa viável para a produção de biodiesel, principalmente por ser uma cultura que não entra em competição com o mercado alimentar (CARDOSO, 2009).

No Brasil, com a implantação do Plano Nacional de Produção de Biodiesel surgiu o interesse na produção do pinhão-manso. Nery et al. (2009) e Andréo-Souza et al. (2010) relatam que esta espécie de oleaginosa é considerada uma cultura potencial para atender a este programa. Além de possuir potencial de rendimento de grãos e óleo, em sua fase inicial, esta espécie pode ser cultivada em consórcio com outras culturas de interesse econômico e alimentar. No Brasil, os plantios comerciais de pinhão-manso ainda encontram-se em fase inicial de implantação e domesticação, entretanto,

espera-se que a cultura deixe de ser um potencial e passe a ser efetivamente uma matéria-prima para o mercado de biodiesel (ANDRÉO-SOUZA et al., 2010).

Entre os fatores abióticos que limitam a produtividade das plantas, pela presença de espécies reativas de oxigênio (EROS ou ROS), destacam-se os altos níveis de radiação solar incidente. No entanto, a produção de EROS nas plantas pode ser em respostas a várias condições ambientais adversas, como falta ou excesso de água, altas e baixas temperaturas e luminosidade, estresse biótico e outros (MALLICK; MOHN, 2000).

O excesso de EROS, proveniente de altas temperaturas ou por exposições prolongadas a altos níveis de luminosidades, pode acarretar sérios problemas para a fotossíntese, uma vez que o excesso de energia não dissipada pode causar sobre-excitação dos centros de reação, gerando danos à integridade e funcionalidade celular, em especial, ao fotossistema II (FSII) devido as suas propriedades estruturais e moleculares (ARAÚJO et al., 2009).

Nos cloroplastos, sob estresse, destacam-se a produção do radical superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ) que são EROS altamente reativas capazes de gerar peroxidação de lipídeos e desnaturação de proteínas (ASADA, 1999; LIMA et al., 2005). Com o aumento do estresse, a peroxidação de lipídeos pode evoluir para uma descompartmentalização celular (LIMA et al., 2005). A formação de EROS pode comprometer a síntese de proteínas prejudicando todo o metabolismo, em especial, a fotossíntese pela inibição da síntese de D1, proteína fundamental na formação do fotossistema II (NISHIYAMA et al., 2006).

Para uma proteção de suas atividades básicas funcionais as plantas contam com a atuação de um complexo sistema de defesa antioxidativo (ASADA, 1999). A situação de estresse induz a expressão dos genes desse complexo a codificarem as enzimas antioxidantes, principalmente a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (JIANG; ZHANG, 2002). A SOD atua como a primeira linha de defesa contra os danos celulares provocados por ROS, pois catalisa a formação de  $H_2O_2$  a partir de  $O_2^-$  fornecendo substrato para a atuação de outras enzimas antioxidantes – CAT e APX.



Em plantas superiores o principal pigmento fotossintético capaz de absorver a radiação visível para as reações fotoquímicas da fotossíntese são as clorofilas (*a* e *b*) e os carotenóides (MARENCO et al., 2007). No entanto, as moléculas de clorofilas não absorvem toda a luz que incide sobre a folha, pois alguns fótons são transmitidos e outros refletidos. Da luz absorvida, 50% dos fótons ativam as moléculas de clorofila do fotossistema II e 50% as do fotossistema I (CAMPOSTRINI, 2008).

Ao receber a energia luminosa as moléculas de clorofila deixam seu estado basal indo para o estado excitado denominado estado singlete 1. Assim, após receberem a energia dos fótons os pigmentos fotossintéticos dissipam esta energia por meio de três vias de dissipação que são: dissipação fotoquímica, fluorescência e calor (CAMPOSTRINI, 2008; BAKER; ROSENPIST, 2004).

A análise das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a* determina a eficiência fotoquímica da fotossíntese, sendo suas principais variáveis calculadas a partir da fluorescência inicial (quando todos os centros de reação estão “abertos” -  $F_0$ ), fluorescência máxima (indica a completa redução da quinona A ( $Q_A$ ) a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação  $Q_A$ , -  $F_m$ ), fluorescência variável (representa o fluxo de elétrons do centro de reação do fotossistema II (P680) até a plastoquinona -  $F_v$ ) e rendimento quântico máximo do fotossistema II (rendimento quântico dos processos fotoquímicos desse fotossistema -  $F_v/F_m$ ) (OUKARROUM et al., 2009; MAXWELL; JOHNSON, 2000). Outro parâmetro que informa a quantidade de elétrons transportados é o  $\Phi_{PS II}$ , sendo, portanto um indicativo da intensidade de fotossíntese (BAKER; ROSENPIST, 2004).

A avaliação da atividade fotossintética das plantas a partir da análise cinética da fluorescência da clorofila *a* permite obter informações sobre os parâmetros estruturais e funcionais, que quantificam o desempenho e atividade da maquinaria fotossintética. É uma técnica eficiente, rápida, sensível e não invasiva e por isso tem sido amplamente utilizada para a avaliação do impacto de diferentes tipos de estresse (YUSUF, 2010) provocado pela intensidade luminosa (GONÇAVES et al., 2010), temperatura (MARENCO et al., 2007), ozônio (MORAIS et al., 2011), seca (MACHADO et al., 2004), salinidade (ZANANDREA et al., 2006) e metais pesados (KONRAD et al., 2005).

Neste trabalho a fluorescência transiente da clorofila *a* foi utilizada nas folhas de plantas de pinhão manso cultivadas em dois ambientes diferentes. Tal procedimento objetivou obter informações sobre os efeitos do estresse de temperatura e luminosidade na maquinaria fotossintética. Dentre os diversos parâmetros obtidos por essa técnica destaca-se o índice de Desempenho (PI) que quantifica as principais etapas fotoquímicas dos fotossistemas II e I (FSII e FSI respectivamente), incluindo a absorção de energia luminosa, interceptação da energia de excitação e conversão da energia de excitação em fluxo elétrico. O PI é o produto de termos que expressam potenciais parciais para a conservação de energia, no caminho sequencial de fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos receptores de elétrons do intersistema e para a redução dos receptores finais do FSI (CHEN et al., 2011).

Procurou-se analisar o desempenho fotossintético também por meio da fluorescência modulada e do analisador de trocas gasosas objetivando validar os resultados obtidos com a técnica da cinética da emissão da fluorescência transiente da clorofila *a*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

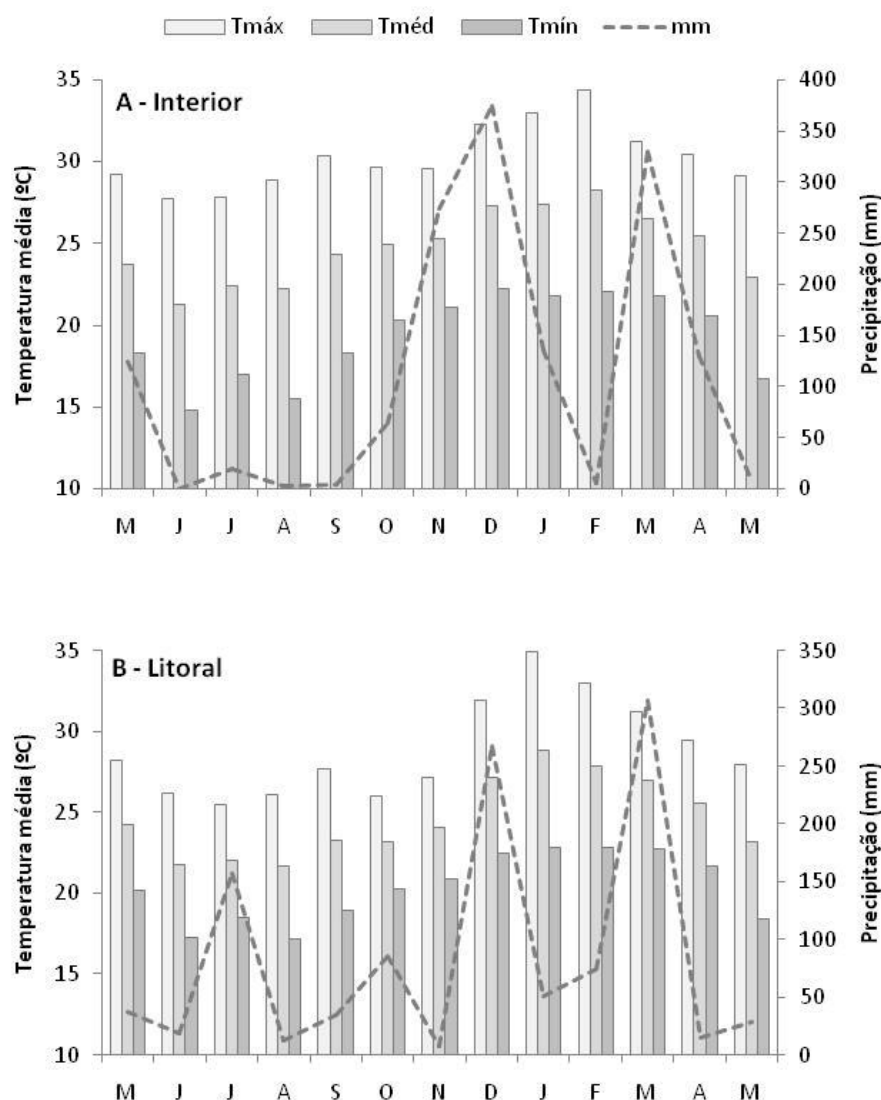
### 2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram avaliadas plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) cultivadas em duas fazendas comerciais: uma na região norte, litorânea (Latitude: 19°23.28'S; Longitude: 40°04.20'W; Altitude: 33m – Pontal do Ipiranga, Linhares) e a outra na região noroeste, montanhosa (Latitude 19°55.40'S, Longitude, 40°50.87' W, Altitude: 220m - Itarana) do Estado do Espírito Santo. As plantas, neste trabalho, serão designadas: do interior (cultivadas na região noroeste) e do litoral (cultivadas na região norte).

Mudas, com aproximadamente 40 dias, foram transplantadas para o campo em dezembro de 2009 e após cinco meses, 150 dias após o plantio (DAP), em maio de 2010, iniciou-se a coleta de dados.

O clima da região noroeste montanhosa, segundo a classificação de Köppen (2009), corresponde à fórmula Bs, ou seja, clima seco ou semi-árido (transição do clima mais úmido para os mais secos), com baixos índices pluviométricos e com temperatura média superior a 18°C (OLIVELLA et al., 2005). Já o clima da região norte, litorânea, corresponde ao grupo Aw, apresentando estação chuvosa no verão e seca, ou menos úmida, no inverno, com uma taxa de precipitação média anual de 1.200 mm e temperatura média de 25°C.

Os dados meteorológicos apresentados foram obtidos na estação meteorológica do INCAPER (Figura 1) e o cultivo foi mantido em condições de sequeiro, ou seja, sem irrigação.



**Figura 1:** Temperaturas máximas, médias e mínimas (°C) e Precipitação média (mm) entre os meses de maio de 2010 a maio de 2011, na região noroeste, montanhosa, interior de Itarana (A) e na região norte, litorânea, litoral de Pontal do Ipiranga, Linhares, ES, (B).

## 2.2. AVALIAÇÕES *IN SITU*

As medidas das trocas gasosas, da fluorescência transiente e modulada da clorofila *a* e os índices de clorofila total tiveram início após seis meses do transplante e foram realizadas em folhas jovens, totalmente expandidas, de plantas de pinhão manso. As medidas seguiram sempre o mesmo padrão na escolha e no posicionamento das folhas para que fossem evitadas quaisquer

interferências em relação à radiação solar incidente, folhagens e espaçamento de plantas, tanto dentro das fileiras quanto entre as mesmas.

### 2.2.1. Crescimento

As medidas do crescimento da parte aérea foram realizadas com o objetivo de conhecer o comportamento das plantas de pinhão manso em seu primeiro ano de cultivo em ambientes distintos no estado do Espírito Santo. A altura das plantas foi medida com o uso de trena a partir da base do solo até o ápice do ramo principal e o diâmetro do caule a 5 cm do solo. Também foram feitas contagem do número de ramos, números de folhas por ramos e, quando possível, número de inflorescência, número de frutos por cacho e número de sementes por fruto.

### 2.2.2. Trocas gasosas

Objetivando analisar a eficiência do uso da água e o efeito das variações meteorológicas sobre as trocas gasosas foram medidas a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), a transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). Também foi realizada a curva de luz. As medições foram feitas em sistema aberto, entre 8 e 9 h, sob luz saturante artificial ( $1.300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e concentração de CO<sub>2</sub> ambiente, com um analisador de gás a infravermelho portátil, (IRGA, modelo LCIPro<sup>+</sup> System, ADC BioScientific Ltd., England). A partir das variáveis obtidas foram calculadas a eficiência instantânea de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ), a razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica ( $C_i/C_a$ ), a eficiência efetiva do uso da água ( $A/E$ ,  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ ) e a eficiência potencial do uso da água ( $A/g_s$ ,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), as duas últimas conforme descrito por MACHADO et al. (2005).

### 2.2.3. Cinética de Emissão da Fluorescência Rápida ou Polifásica (OJIP)

A cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* foi medida durante a fase vegetativa e reprodutiva das plantas, utilizando-se um fluorômetro portátil (modelo Handy PEA, Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, UK) visando

obter informações sobre os parâmetros estruturais e funcionais que quantificam o desempenho e atividade da maquinaria fotossintética.

Todas as leituras foram realizadas após a aclimatização das amostras ao escuro por 30 minutos, período suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons. A emissão de fluorescência transiente da clorofila *a* foi induzida em uma área de 4 mm de diâmetro da folha pela exposição da amostra a um pulso de luz vermelha de  $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A fluorescência inicial ( $F_0$ ) foi considerada como sendo o nível de fluorescência no tempo de 50  $\mu\text{s}$  (STRASSER; STRASSER, 1995), sendo que  $F_0$  é a intensidade de fluorescência em que todos os centros de reação do fotossistema II (FSII) estão abertos (oxidados). A intensidade de fluorescência máxima ( $F_M$ ), que é obtida quando todos os centros de reação do FSII estão fechados (reduzidos) também foi determinada. Após serem obtidas as intensidades de fluorescência, foram calculados os parâmetros estabelecidos pelo teste JIP (STRASSER; STRASSER em 1995; TSIMILI-MICHAEL; STRASSER, 2008), usando o software Biolyzer, desenvolvido no Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra.

Dentre os diversos parâmetros de análises da fluorescência transiente, neste trabalho foram utilizados: a) razões de fluxo ou de rendimento: rendimento quântico máximo do FSII ( $F_V/F_M = \phi_{P_0} = TR_0/ABS$ ), e eficiência com o qual um fóton capturado pode mover um elétron na cadeia de transporte de elétrons para além da quinona A reduzida ( $Q_A^-$ ) ( $ET_0/TR_0 = \psi_{E_0}$ ); b) razões de fluxo específico de: energia absorvida por centro de reação ( $ABS/RC$ ), energia capturada por centro de reação em  $t=0$  ( $TR_0/RC$ ), transporte de elétrons por centro de reação em  $t=0$  ( $ET_0/RC$ ) e energia dissipada por centro de reação em  $t=0$  ( $DI_0/RC$ ); c) índice de desempenho (potencial) para a conservação de energia a partir de fótons absorvidos pelo FSII para a redução de aceptadores de elétrons do intersistema ( $PI_{ABS}$ ) e índice de desempenho (potencial) para a conservação de energia a partir de fótons absorvidos pelo FSII para a redução de aceptadores finais FSI ( $PI_{TOTAL}$ ) e d) componentes dos índices de desempenho: densidade de centros de reação ativos do FSII ( $RC/ABS$ ), eficiência das reações fotoquímicas do FSII [ $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$ ], eficiência

das reações fotoquímicas após a redução de  $Q_A^- [\psi_0/(1-\psi_0)]$ , e eficiência das reações fotoquímicas no FSI  $[\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})]$  (HAN et al., 2009).

#### 2.2.4. Fluorescência da clorofila a com pulso modulado

Os parâmetros da fluorescência da clorofila a com pulso modulado foram estimados usando-se um fluorômetro portátil (modelo FMS-2, Hansatech Instruments Ltd, Northfolk, UK). Objetivando estimar a eficiência fotoquímica das plantas de pinhão manso foram avaliados os seguintes parâmetros: fluorescência mínima, máxima e variável em estado adaptado a luz ( $F_o'$ ,  $F_M'$  e  $F_V'$ , respectivamente), coeficiente de extinção fotoquímico (qP), eficiência quântica fotoquímica efetiva em estado adaptado a luz ( $F_V'/F_M'$ ), rendimento quântico efetivo [ $\phi_{PSII} = (F_M' - F_S)/F_M'$ ] e taxa de transporte de elétrons no FSII (ETR =  $\phi_{PSII} \times PFD \times 0.5 \times 0,85$ ) (GENTY et al., 1990).

#### 2.2.5. Análise química do solo

As amostras do solo foram coletadas em vários pontos da região de cultivo, mantendo uma mesma altura (20 e 40 cm). Em seguida, estas amostras foram misturadas para a obtenção de uma única parcela, e finalmente, enviadas para um Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental.

**Tabela 1:** Análise química do solo onde foram avaliadas as plantas de *J. curcas* L., no interior (região noroeste, montanhosa) e no litoral (região norte, litorânea).

Resultado da Análise					
Parâmetro	Unid.	Interior <small>solo argiloso</small>		Litoral <small>solo arenoso</small>	
		20 cm	40 cm	20 cm	40 cm
Matéria orgânica	dag/cm <sup>3</sup>	1,35	1,9	3,7	2,4
Fósforo	mg/dm <sup>3</sup>	29,5	34	3	3
Potássio	mg/dm <sup>3</sup>	74	89	10	8
Enxofre	mg/dm <sup>3</sup>	27,5	28	2	1
Cálcio	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	1,05	1,1	0,5	0,4
Magnésio	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	0,65	0,65	0,1	0,1
Alumínio	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	0,45	0,45	0,0	0,0
Ferro	mg/dm <sup>3</sup>	65,5	67,5	129	113
Manganês	mg/dm <sup>3</sup>	40,5	34	11	13
Cobre	mg/dm <sup>3</sup>	0,85	0,9	0,3	0,2

**Tabela 2:** Valores de referência para cada parâmetro analisado, fornecido pelo laboratório de análises agronômicas, para uma cultura perene.

Valor de referência para cultura perene					
Parâmetro	Muito Baixo	Baixo	Médio	Alto	Muito Alto
Matéria orgânica	-	< 1,6	1,6 – 3,0	> 3,0	-
Fósforo solo argiloso	-	< 5	5 - 10	> 10	-
Fósforo solo arenoso	-	< 20	20 - 30	> 30	-
Potássio	-	< 60	60 -150	> 150	-
Enxofre	-	< 5	5 - 10	> 10	-
Cálcio	-	< 1,5	1,5 – 4,0	> 4,0	-
Magnésio	-	< 0,6	0,6 – 1,0	> 1,0	-
Alumínio	-	-	-	-	-
Ferro	> 20	21 - 31	31 - 200	> 200	-
Manganês	< 6	6 – 11	12 -130	> 130	-
Cobre	< 0,6	0,6 – 1,5	1,6 – 20,0	> 20	-

### 2.3. AVALIAÇÕES *IN VITRO*

Imediatamente após as medidas *in situ* serem realizadas, as mesmas folhas usadas para avaliação das trocas gasosas e fluorescência foram coletadas e levadas até Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Setor de Botânica (Departamento de Ciências Biológicas), da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – ES, sendo mantidas até o momento das análises em baixas temperaturas afim de se reduzirem as atividades metabólicas.

#### 2.3.1. Teores de pigmentos fotossintéticos

Os teores de clorofila foram determinados nas mesmas folhas onde foram estimadas as trocas gasosas e a fluorescência transiente e modulada. No campo foi utilizado um medidor portátil de clorofila (modelo SPAD-502, Minolta Camera Ltd.) e no laboratório de Ecofisiologia Vegetal os teores foram obtidos utilizando-se o método espectrofotométrico com extração em acetona 80%. As determinações das concentrações de clorofila foram realizadas usando as equações de Arnon (1949):

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times 1,119$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times 1,102$$



### 2.3.2. Atividade enzimática

As análises da atividade enzimática a fresco foram realizadas nas mesmas folhas onde foram feitas as medidas dos pigmentos fotossintéticos e as estimativas de trocas gasosas e fluorescência, objetivando validar os resultados obtidos com as técnicas de fluorescência da clorofila *a* bem como avaliar as estratégias adaptativas das plantas de pinhão manso aos estresses ambientais.

#### 2.3.2.1. Obtenção do extrato bruto

As proteínas totais foram extraídas de tecido foliar triturado, na presença de polivinilpirrolidona, em tampão fosfato 200 mM pH 6,8, ácido ascórbico 100 mM, EDTA 10 mM e 585  $\mu$ L de água. O homogenato foi centrifugado (13.000 g, 10 min.) na temperatura de 4°C. O sobrenadante foi utilizado para os ensaios de dosagem de proteínas e atividade de enzimas antioxidantes (SCHWANZ; POLLE, 2001).

#### 2.3.2.2. Proteínas totais

O conteúdo protéico do extrato bruto foi determinado pelo método fotocolorimétrico de Bradford (1976), utilizando, como padrão, soro albumina bovina (1 mg mL<sup>-1</sup>).

#### 2.3.2.3. Dismutases de Superóxidos – SOD (EC 1.15.1.1)

A atividade da dismutase de superóxido foi determinada pela inibição da redução do NBT (*p*-nitro blue tetrazolium), segundo Giannopolitis; Ries (1977), pelo extrato enzimático evitando assim a formação de cromóforo. A 595 nm, uma unidade de atividade enzimática da SOD (U) foi considerada como a quantidade de enzima necessária para obter 50% de inibição da redução do NBT pela SOD contida no extrato enzimático. A atividade enzimática foi expressa em U mg<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup> ou SOD em U mg<sup>-1</sup>Prot min<sup>-1</sup>.

#### 2.3.2.4. Catalase – CAT (EC 1.11.1.6)

Para determinar a atividade desta enzima foram adicionados 25 $\mu$ l do extrato enzimático bruto ao meio de reação constituído por tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0 e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 250 mM. O decréscimo no comprimento de

onda, nos primeiros minutos de reação, foi medido a 25°C na absorvância de 240 nm a cada 15 segundos, determinando-se desta forma a atividade da CAT. Foi considerado o coeficiente de extinção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 39,4 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-2</sup>. A sua atividade foi expressa em U mg<sup>-1</sup> proteína (uma U corresponde a oxidação de 1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>) (DHINDSA et al., 1981).

#### 2.3.2.5. Ascorbato Peroxidase – APX (EC 1.11.1.11)

Para determinar a atividade da enzima APX foram adicionados 50 μl do extrato enzimático bruto ao meio de reação constituído por ácido ascórbico 10 mM, tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0 e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2mM. O decréscimo na absorvância, nos cinco primeiros minutos de reação, foi medido a 25°C no comprimento de onda de 290 nm a cada 15 segundos, determinando-se desta forma a atividade da APX. Foi considerado o coeficiente de extinção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 39,4 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-2</sup>. A atividade da APX foi expressa em U mg<sup>-1</sup> proteína (uma U corresponde a oxidação de 1 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>) (DHINDSA et al., 1981).

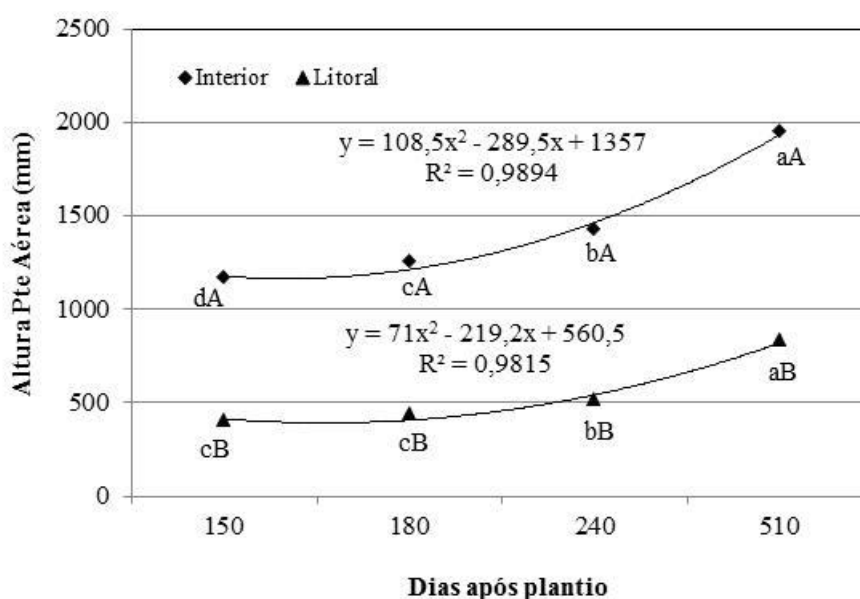
## 2.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises foram realizadas em uma área de cultivo comercial, com delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma planta. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, usando o Programa Assistat 7.5 beta (2008), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB. Os parâmetros do Teste JIP, derivados da curva OJIP, que expressam a transferência de elétrons pelos fotossistemas em maiores detalhes, foram normalizados e plotados em colunas, onde cada uma delas representa o desvio do comportamento em relação ao controle de ambas as regiões avaliadas. As plantas aos 150 DAP foram tomadas como referência (igual a unidade).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. CRESCIMENTO

As plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas no interior do estado (Itarana), região onde se constatou maior disponibilidade de nutrientes (Tabela 1 e 2), apresentaram maior taxa de crescimento da parte aérea com diferença significativa entre todas as medidas realizadas (Figura 2).



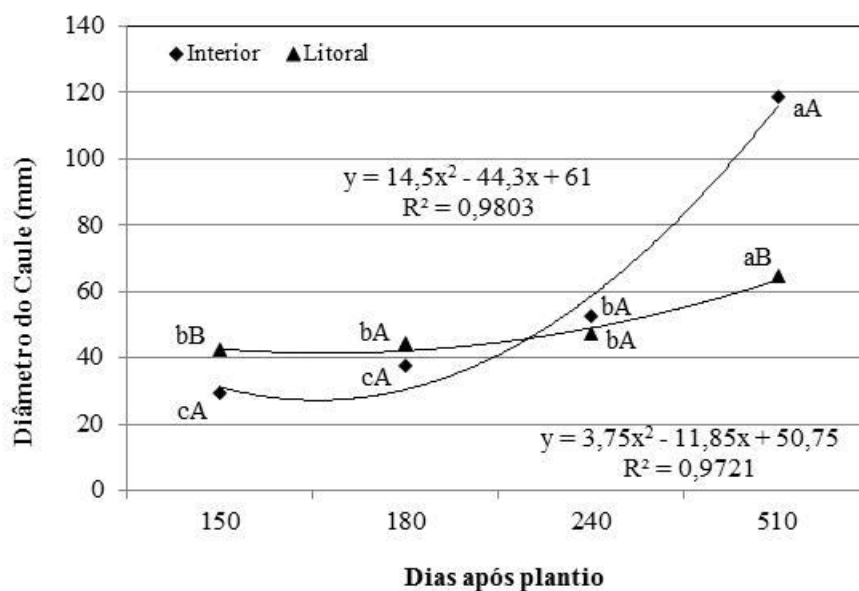
**Figura 2:** Altura da parte aérea de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo entre 150 e 510 DAP. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (dias), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10).

A altura da parte aérea das plantas de ambas as regiões foi semelhante nos dois primeiros intervalos de avaliação (150 a 180 e 150 a 240 dias após o plantio – DAP), sendo de 8 e 22% (nas plantas do interior) e 9 e 27% (nas plantas do litoral). Entretanto, no último intervalo de avaliação (150 a 510 DAP), as plantas do interior apresentaram um crescimento de 68%, enquanto as do litoral, 107%. Um ano após as primeiras medidas, (510 DAP) a diferença na taxa de crescimento entre as duas regiões reduziu-se em 134%. Considerando que as medidas tiveram seu início e final no mês de maio, início do período seco e com temperaturas mais baixas no estado do Espírito Santo, torna-se necessário considerar a fisiologia caducifolia da espécie. Para Laviola et al.

(2011) a inversão da relação frente/dreno nas plantas de pinhão manso, no sentido de armazenar reservas durante o período sem folhas, é necessária para manter o metabolismo e ter reservas suficientes para a formação de folhas e inflorescências no próximo período de crescimento.

As avaliações neste trabalho foram realizadas durante o primeiro ano de crescimento das plantas em ambas as regiões. No início do período vegetativo o crescimento foi mais uniforme e neste primeiro ano não foi observada perda total da área foliar.

O crescimento no diâmetro do caule foi diferente daquele observado na altura da parte aérea. As plantas cultivadas na região litorânea, aos 150 DAP, apresentaram maior taxa de crescimento em diâmetro e não diferiram nas duas medidas seguintes, aos 180 e 240 DAP (Figura 3) enquanto que as plantas cultivadas no litoral mostraram maior uniformidade e não houve diferença significativa entre as medidas aos 150, 180 e 240 DAP. Aos 510 DAP, observa-se uma tendência à continuidade da uniformidade, porém com diferença estatística e proporcionalidade em relação aos 150 DAP de 52%.



**Figura 3:** Diâmetro do caule de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo entre 150 e 510 DAP. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (dias), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10).

Nas plantas crescidas no interior, observa-se que o crescimento do diâmetro do caule acompanhou o crescimento em altura da parte aérea e que a taxa de crescimento aumentou, 27, 79 e 307%, em relação aos 150 DAP para os 180, 240 e 510 DAP, respectivamente.

Após um ano, baseando-se no desenvolvimento da cultura, nota-se que as plantas do interior apresentaram maiores taxas de crescimento em altura da parte aérea, além de quadruplicarem o crescimento no diâmetro do caule, sugerindo, portanto, melhor desempenho da espécie nesta região, sendo esperado uma melhor produtividade.

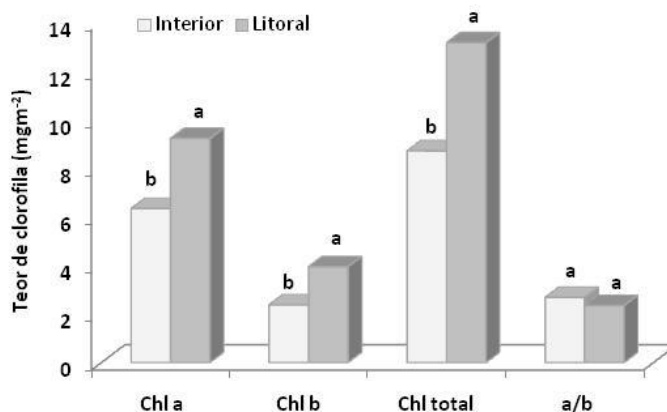
Por ser uma espécie perene, a altura da parte aérea e o diâmetro do caule de *J. curcas* podem ser considerados características de importância secundária em relação às plantas de porte madeireiro, no entanto, assim como o número de bifurcações e número de inflorescências, tornam-se características de fundamental relevância, em diversas condições de cultivo, para a produção e produtividade da cultura.

Drumont et al. (2010) ao avaliarem genótipos da espécie *J. curcas*, no semi-árido pernambucano, levaram em consideração o número de bifurcações e a variação de bifurcações por planta na determinação do melhoramento vegetal que visem ao aumento da produção de sementes da espécie. Sob o ponto de vista fitotécnico, segundo Gonçalves et al. (2008), a característica altura também apresenta importância nos aspectos de densidade e manejo de cultura.

Em seus estudos com diferentes genótipos de *J. curcas* L., Drumont et al. (2010) também relacionaram produtividade com o crescimento e o tipo de solo de cultivo, revelando que esta espécie pode apresentar potencial produtivo mesmo em condições do semiárido brasileiro, no entanto, o aumento no nível de fertilizantes e da disponibilidade de água pode elevar ainda mais a sua produtividade. Estudos sobre a produtividade desta espécie na Índia e na Tailândia confirmam os resultados dos autores (LAL et al., 2004; SAIMANEERAT et al., 2007). Sendo assim, as plantas cultivadas na região litorânea do estado do Espírito Santo, mesmo sob condições adversas podem apresentar uma capacidade de produção significativa, nos próximos anos.

### 3.2. TEORES DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Os maiores teores de clorofila (Figura 4) foram encontrados nas plantas da região do litoral. Os resultados mostram um teor de clorofila *a* e *b*, 45 e 66% maior, respectivamente, quando comparados com aqueles das plantas da região montanhosa do interior. No entanto, para ambas as regiões a razão *a/b* manteve-se próximo a 2,5:1. Condições de crescimento e os fatores ambientais podem afetar essa razão (CARVALHO et al., 2007). Segundo Lichtenthaler (1987) quando as plantas estão expostas a alta luminosidade a razão clorofila *a/b* varia de 3,2 a 4,0, já em condições de baixa densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos há uma redução para 2,5 a 2,9. Uma estratégia para garantir maior eficiência na absorção de energia luminosa é o aumento na síntese de clorofila *b* (LÜTTGE et al., 1997). De fato, os valores obtidos para a razão clorofila *a/b* (2,34 e 2,67 para o Litoral e Interior, respectivamente) no presente estudo indicam um aumento dos teores de clorofila *b* nas plantas cultivadas no litoral. Gamon et al. (1997) também não encontraram diferenças significativas para a razão de pigmentos foliares ao comparar espécies perenes decíduas cultivadas em estufa.



**Figura 4:** Concentrações médias de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e razão clorofila *a/b* em folhas de plantas de *Jatropha curcas* L., cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo. As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10).

Os índices de clorofila obtidos com o clorofilômetro SPAD-502 (dados não mostrados) também indicaram maiores valores na região do litoral. A

avaliação do conteúdo relativo de clorofila nas folhas fornece uma medida indireta do estado nutricional das plantas e pode servir como base no ajuste da quantidade de nitrogênio a ser aplicada nas coberturas vegetais (HURTADO et al., 2011).

Os teores de matéria orgânica obtidos pela análise química do solo (Tabela 1) mostram maiores valores para o solo da região do litoral, sugerindo maior disponibilidade de nitrogênio. O nitrogênio na produção vegetal está diretamente ligado à fotossíntese, já que a "energia física" dos fótons é convertida em "energia química" no ATP e em intermediários reduzidos (em especial o NADPH), utilizados na síntese de assimilados de carbono e nitrogênio, particularmente carboidratos e aminoácidos, essenciais ao crescimento da planta (FOYER et al., 2001).

Portanto, a região do litoral, ao apresentar maior disponibilidade de nitrogênio uma vez que os níveis de matéria orgânica encontrada no solo foram mais altos, apresentou também maiores teores e índices de clorofila total.

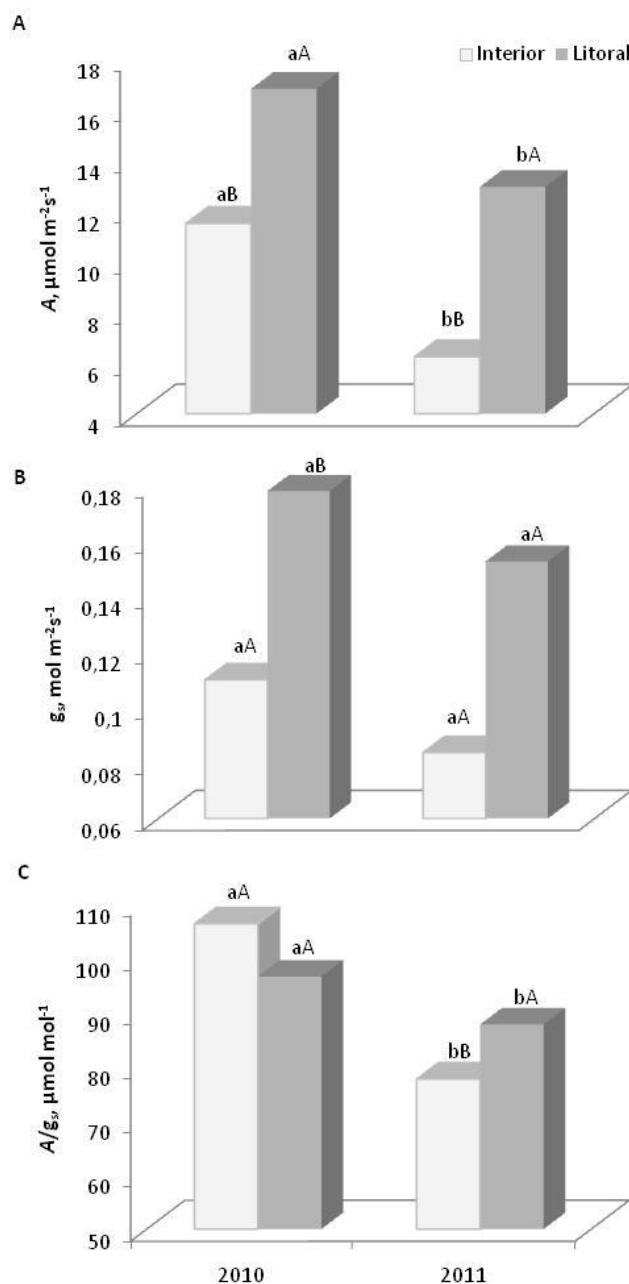
### 3.3. TROCAS GASOSAS

As taxas de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ) obtidas nas plantas da região do litoral foram significativamente maiores do que aquelas da região do interior (Figura 5A). Esses valores aumentaram desde a primeira medida (maio/2010) sendo 46% maiores nas plantas do litoral, e alcançando 107% após um ano (maio/2011). No entanto a taxa real de assimilação líquida do  $\text{CO}_2$  reduziu com o crescimento das plantas em ambas as regiões. Esta redução foi mais acentuada nas plantas do interior com uma queda de 45%, enquanto que nas plantas do litoral a queda foi de 23%.

A condutância estomática ( $g_s$ ), de modo semelhante à fotossíntese ( $A$ ), mostrou-se significativamente maior nas plantas da região do litoral. Nas duas regiões também houve queda desse parâmetro após um ano, embora sem diferença estatística (Figura 5B).

A eficiência potencial do uso da água ( $A/g_s$ ), representada pela relação entre a fotossíntese ( $A$ ) e a condutância estomática ( $g_s$ ), não mostrou diferença entre as plantas das regiões litorânea e do interior durante os primeiros meses

de avaliação, entretanto, após um ano (maio/2011) houve significativa diferença entre as plantas de ambas as regiões (Figura 5C).



**Figura 5:** A) Assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A, \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), B) condutância estomática ( $g_s, \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e C) eficiência potencial de uso da água ( $A/g_s, \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ( $n=10$ ).

É possível observar na Figura 5 que as plantas da região do litoral apresentaram maior  $A$  e  $g_s$  nos dois períodos avaliados e que as plantas do interior mostraram as maiores porcentagens de queda de um período ao outro.



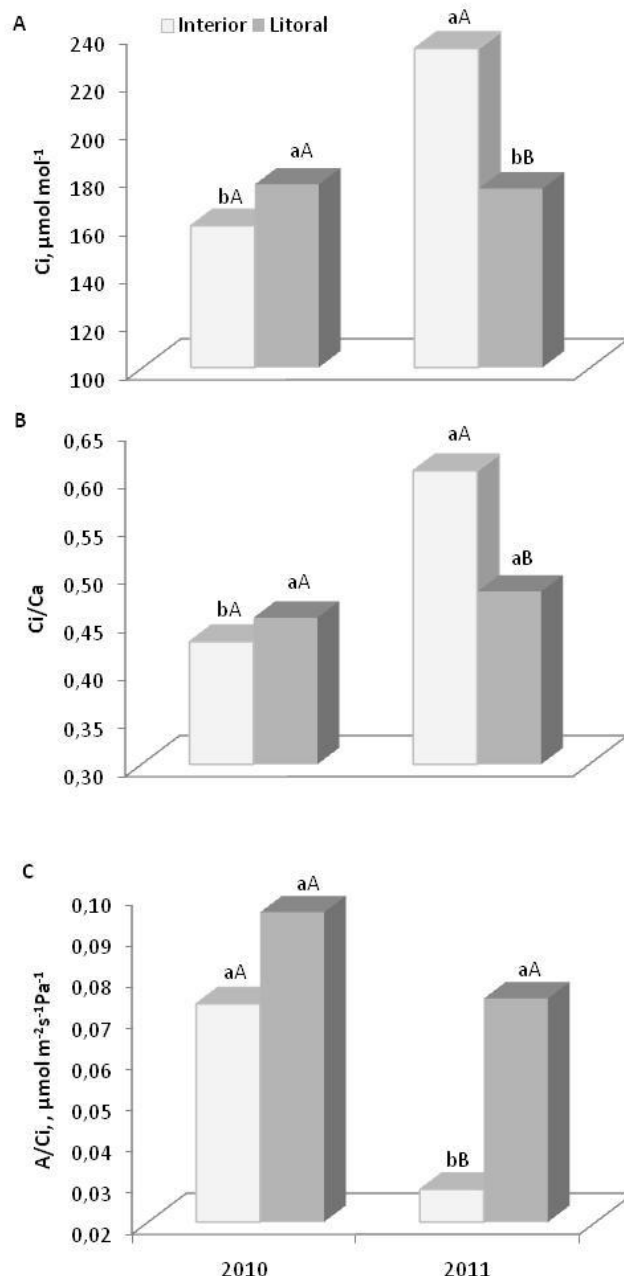
Desse modo, as plantas de pinhão manso cultivadas no litoral apresentaram maior capacidade potencial de utilização da água ( $A/g_s$ ).

A concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ), no estágio inicial de desenvolvimento das plantas não diferiu estatisticamente entre as regiões. No ano seguinte, a diferença entre as regiões mostrou-se significativa, sendo que as plantas da região do interior apresentaram concentração intercelular de  $CO_2$  33% maior que as do litoral e após um ano, esta diferença chegou a 46% (Figura 6A).

De modo similar a razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica ( $C_i/C_a$ ), em maio 2010 não mostrou diferença estatística entre plantas de ambas as regiões, tendo em vista que a diferença percentual entre elas foi de apenas 4%. No ano seguinte, maio/2011, as plantas da região do interior mostraram aumento de  $C_i/C_a$  27% maior que as do litoral. Esta razão aumentou para 43% no período de um ano nas plantas da região do interior e não diferiram nas plantas do litoral.

Por conseguinte a eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ), que expressa a quantidade de carbono absorvido que será realmente assimilado, mostrou-se 30% maior nas plantas do litoral em maio/2010, embora sem diferença estatística, já em maio/2011, esta diferença foi de 233%, diferindo estatisticamente. No entanto, observa-se uma redução deste parâmetro em ambas as regiões, sendo mais acentuada nas plantas da região do interior (57%) que nas plantas do litoral (30%).

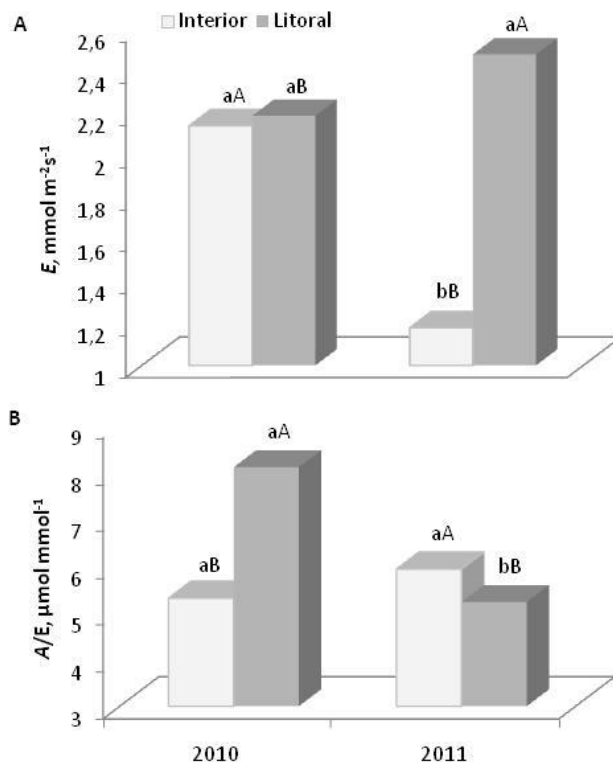
As maiores concentrações de carbono ( $C_i$  e  $C_i/C_a$ ) juntamente com a menor eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) encontradas nas plantas da região do interior refletem as menores taxas de fotossíntese apresentadas por estas plantas (Figura 5A).



**Figura 6:** A) Concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ); B) razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica ( $C_i/C_a$ ) e C) eficiência instantânea de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ ) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. (n=10).

As plantas da região do litoral apresentaram maiores taxas de transpiração ( $E$ ) nos dois períodos, porém nota-se que em maio/2011 houve uma expressiva diferença percentual, 110% maior do que as plantas do interior.

Quando comparadas entre si observa-se que as plantas do interior mostraram uma redução de 81% em  $E$ , enquanto que as plantas do litoral tiveram um aumento de 13% (Figura 7A).



**Figura 7:** A) Transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e B) eficiência real do uso da água ( $A/E$ ,  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ ) de plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior) e na região norte, litorânea (Litoral) do Estado do Espírito Santo, entre maio/2010 e maio/2011. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas (regiões) e minúsculas (ano), para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ( $n=10$ ).

A eficiência real do uso da água ( $A/E$ ) mostrou-se maior nas plantas do litoral em maio/2010, enquanto que em maio/2011 foram as plantas do interior que se mostraram com maior eficiência (Figura 7B).

Assim, estes resultados permitem concluir que as plantas cultivadas na região montanhosa (interior) que apresentaram menor condutância estomática, menor taxa de transpiração ( $E$ ) e maior eficiência real do uso da água ( $A/E$ ) tiveram um melhor aproveitamento da água disponível.

Também é possível sugerir a relação observada entre os resultados do metabolismo fotossintético (Figuras 5, 6 e 7) e as variações das condições

meteorológicas ambientais (Figura 1). Estes resultados confirmam o sugerido por Santos (2008), de que *Jatropha curcas* L. é uma espécie capaz de se desenvolver em ambiente com baixa disponibilidade de água, no entanto, quando cultivada em ambientes com maiores níveis de pluviosidade, apresenta maior desenvolvimento e maior produção de biomassa.

A relação inversamente proporcional entre a concentração interna de CO<sub>2</sub> e a fotossíntese sugere que as altas taxas de  $C_i$  foram limitantes para a fotossíntese nas plantas da região do interior. Isto é, altas taxas de  $C_i$  indicam menor assimilação de carbono e conseqüentemente menor fotossíntese. Estes resultados não foram verificados por Aragão et al. (2005), Miranda et al. (2005) e Machado et al. (2005), os quais verificaram que aumento na concentração interna de CO<sub>2</sub> pode causar elevação na fotossíntese, sendo a condutância estomática o fator limitante. Passos et al. (2005), Yu et al. (2005) e Machado Filho et al. (2006) constataram, em diferentes espécies, que a redução na condutância estomática causou elevação na eficiência real no uso da água (A/E) e Tatagiba et al. (2007) e Endres (2007) verificaram que quando aumenta a transpiração reduz-se a relação A/E.

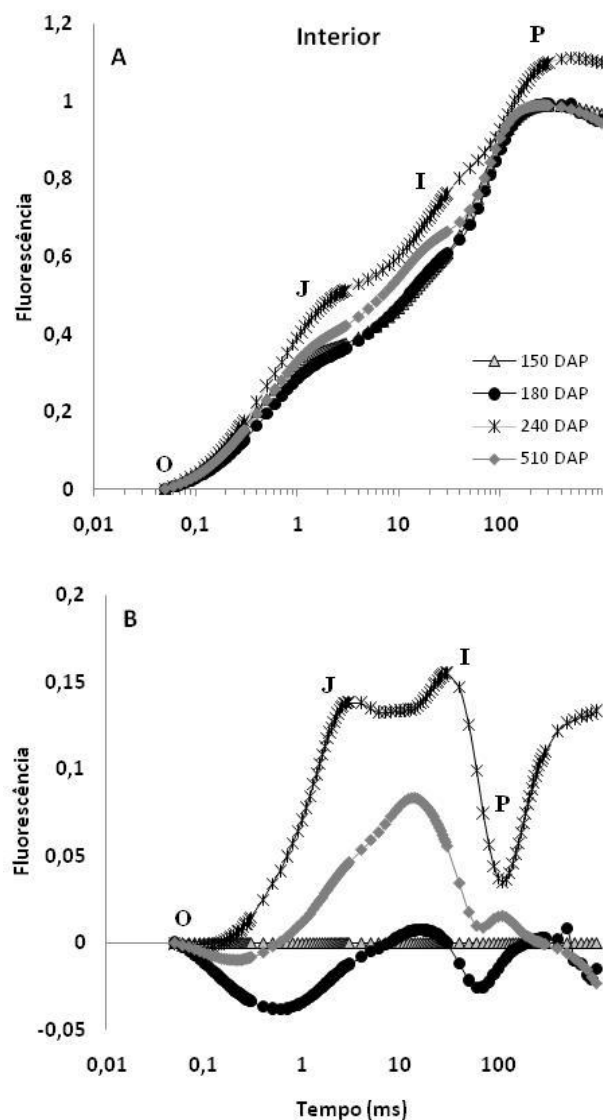
#### 3.4. CINÉTICA DE EMISSÃO DA FLUORESCÊNCIA TRANSIENTE OU POLIFÁSICA (OJIP)

A alteração na forma das curvas de cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a* permitiu deduzir que as variações climáticas ao longo de um ano, provocaram mudanças nas reações de oxirredução associadas ao FS II, tanto no lado acceptor quanto no lado doador de elétrons (Figura 1 e 8).

Para avaliar a ação dos diferentes estresses sobre FSII e FSI das plantas em ambos os ambientes foram feitas medidas da fluorescência transiente da clorofila *a* em folhas intactas (Figura 8 e 9). As curvas foram normalizadas entre  $F_0$  e  $F_M$  obtendo-se a fluorescência variável relativa [ $V_t = (F_t - F_0)/(F_v)$ ]. Ao torná-las comparáveis observam-se variações na forma polifásica típica. Nota-se que nas plantas do interior, aos 240 DAP as etapas J, I e P apresentaram-se maiores que as demais. Também aos 510 DAP as etapas J e I destacam-se do conjunto (Figura 8A). Contrastando com esses resultados, as

curvas obtidas das plantas do litoral apresentaram-se com polifases típicas e somente aos 180 e 240 DAP as etapas J e I foram mais elevadas.

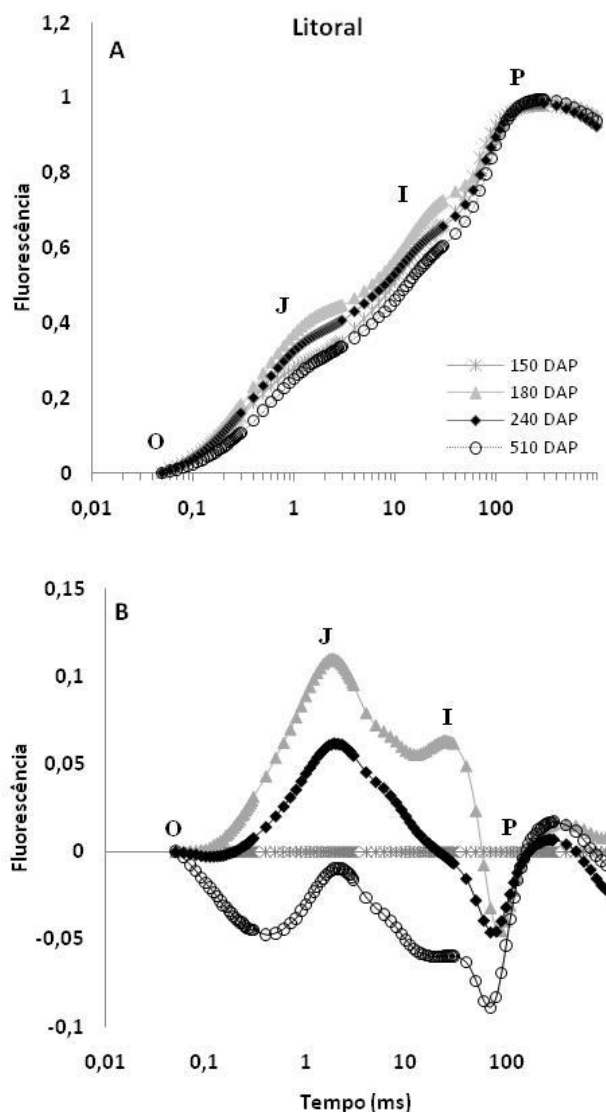
Visando destacar as diferenças observadas foram calculadas as diferenças entre as medidas,  $\Delta V_t = V_t \text{ variável} - V_t \text{ referência}$ , utilizando como referência o primeiro mês de medida (Figura 8B e 9B).



**Figura 8:** Cinética OJIP da fluorescência da clorofila *a* de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região noroeste, montanhosa (Interior), Itarana, ES. As medidas foram feitas entre 150 e 510 dias após o plantio (DAP). A) Fluorescência variável relativa -  $V_t = (F_t - F_0) / (F_v)$  e B) Diferença cinética da fluorescência  $\Delta V_t = V_{t \text{ variável}} - V_{t \text{ referência}}$  onde  $V_{t \text{ referência}}$  é a fluorescência variável relativa das plantas aos 150 DAP. (n=10)

Observa-se nas curvas obtidas com a análise das plantas do interior que a maior diferença positiva em todos os pontos ocorreu aos 240 DAP, ou seja,

maiores intensidades de fluorescências (Figura 8B). Esta diferença foi mais acentuada nas etapas J e I, indicando redução no transporte de elétrons na região do intersistema (TÓTH et al., 2007). As maiores intensidade de fluorescência ocorreram aos 240 DAP, período em que também foram registrados os mais baixos índices de precipitação na região (Figura1A).



**Figura 9:** Cinética OJIP da fluorescência da clorofila *a* de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região norte, litorânea (Litoral), Pontal de Ipiranga/Linhares, ES. As medidas foram feitas entre 150 e 510 dias após o plantio (DAP). A) Fluorescência variável relativa -  $V_t = (F_t - F_0) / (F_v)$  e B) Diferença cinética da fluorescência  $\Delta V_t = V_{t\text{variável}} - V_{t\text{referência}}$  onde  $V_{t\text{referência}}$  é a fluorescência variável relativa das plantas aos 150 DAP. (n=10)

Ao analisar as curvas da cinética OJIP da fluorescência da clorofila *a*, Schansker et al. (2005) destacaram três fases da fluorescência transiente OJIP (O-J, J-I e I-P) que refletem três diferentes processos da cadeia transportadora

de elétrons. A primeira fase, a fase O-J, que representa a redução do lado acceptor do FSII ( $Q_A$  e  $Q_B$ ) (TÔTH, 2006); a fase J-I que tem propriedades cinéticas relacionadas à progressiva redução do *pool* de PQ (TÔTH et al., 2007) e a fase mais tardia, I-P, que ocorre normalmente de 30 a 200 ms e se mostra paralela à re-redução da plastocianina ( $PC$ )<sup>+</sup> e de  $P_{700}^+$  no FSI (SCHANSKER et al., 2003).

Menores intensidades de fluorescências, ou maiores diferenças negativas, especialmente entre as etapas O-J e I-P, podem ser visualizadas na curva obtida aos 180 DAP (Figura 8B). Respectivamente, estas diferenças indicam, maior redução do lado acceptor do FSII ( $Q_A$  e  $Q_B$ ) e maior re-redução da plastocianina ( $PC$ )<sup>+</sup> e de  $P_{700}^+$ , por conseqüência, melhor atividade do FSI (TÔTH et al., 2007). Após um ano, isto é, aos 510 DAP, verificam-se também altas intensidades de fluorescência na etapa J-I em relação à curva padrão (150 DAP) (Figura 8B).

A análise das curvas da fluorescência OJIP obtidas na região do litoral mostra que as maiores intensidades de fluorescência ocorreram aos 180 DAP, especialmente na região do intersistema (etapa J-I), enquanto que as menores curvas da fluorescência OJIP podem ser observadas na curva dos 510 DAP. O ponto P evidencia melhor a ocorrência da menor fluorescência, mostrando melhor atividade do FSI (Figura 9B). Semelhante ao ocorrido na região do interior, os baixos índices de pluviosidade afetaram o desempenho fotoquímico das plantas em ambas as regiões, diferentemente das temperaturas médias mensais, tendo em vista que as temperaturas não apresentaram grandes variações (Figura 1).

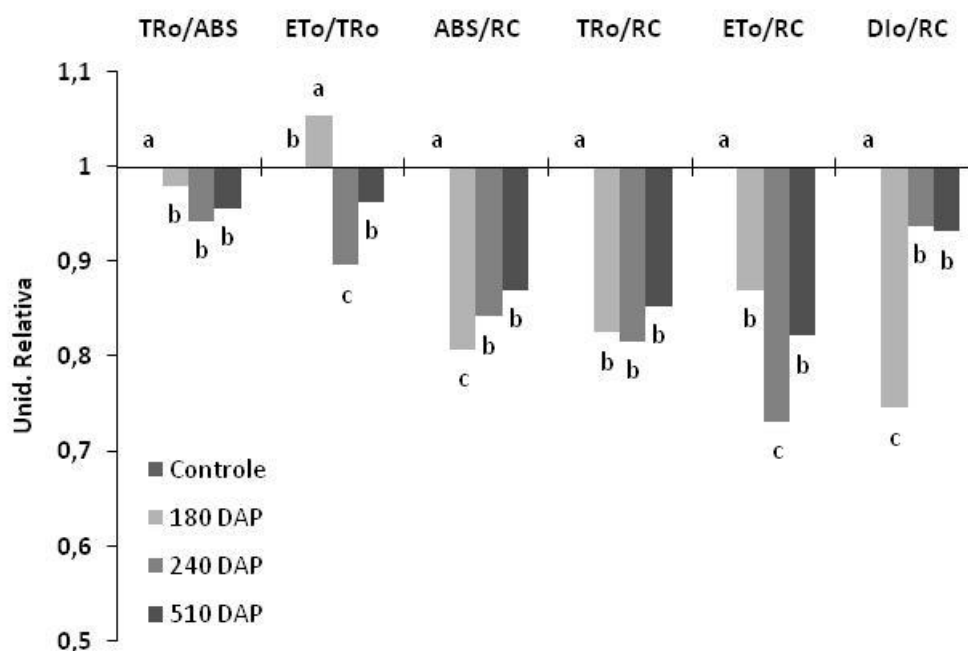
Quando se comparou as intensidades de fluorescência OJIP das plantas cultivadas nas duas regiões observou-se que as plantas da região do litoral, aos 180 DAP, apresentaram maior intensidade de fluorescência, no entanto, aos 240, a intensidade de fluorescência foi maior nas plantas região do interior (Figura 8B e 9B). Em ambas as regiões as medidas que registraram as maiores fluorescências foram nos meses em que ocorrem as menores precipitações.

A diferença entre as regiões é melhor visualizada na curva de 240 DAP, a mesma apresentou-se com todos os pontos da curva mais elevados nas plantas da região do interior. Dentre os pontos, destacam-se os pontos J e I, o que indica acúmulo de  $Q_A^-$ , isto é, a inibição da reoxidação de  $Q_A^-$  e,

conseqüentemente, de  $Q_B$  (SMIT et al., 2009). Este acúmulo teve como consequência uma queda no fluxo de elétrons na região do inter-sistema (compreendida por  $Q_B$ , o 'pool' de plastoquinona, o complexo citocromo  $b_6f$  e a plastocianina). Nota-se, portanto que as plantas da região do interior tiveram o desempenho fotoquímico mais afetado quando comparadas às plantas da região do litoral.

### 3.4.1. Teste JIP

Exceto  $ET_0/TR_0$ , observa-se que todos os parâmetros funcionais, isto é, os parâmetros do Teste JIP (STRASSER et al., 2004) que revelam os fluxos específicos de energia por centro de reação foram maiores nas plantas do interior aos 150 DAP. Comportamento oposto nos resultados apresentados na Figura 10.



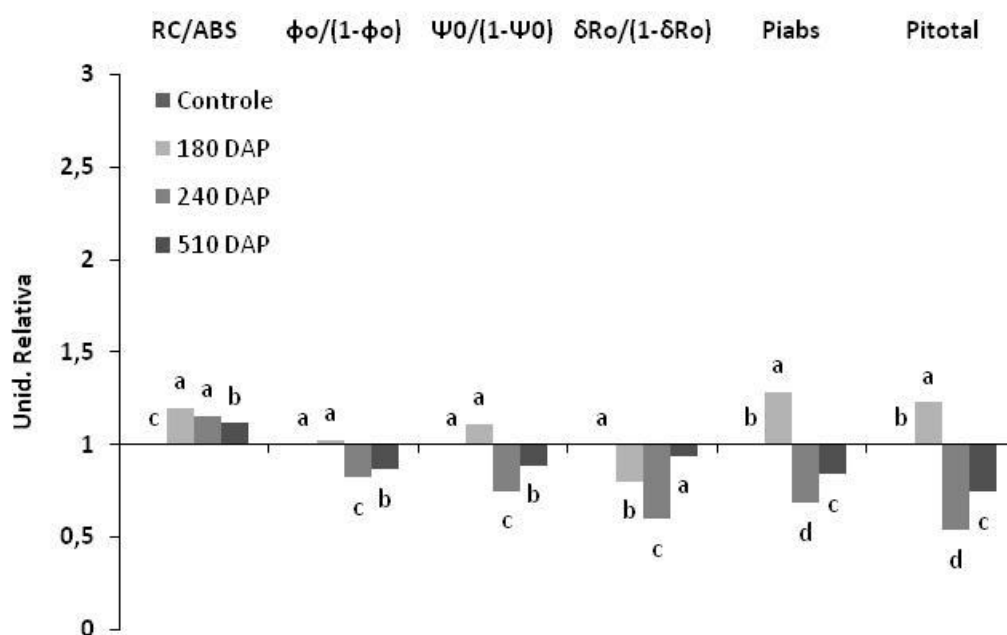
**Figura 10:** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em razões de fluxo ou de rendimento ( $TR_0/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ ) e razões de fluxo específico ( $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$ ,  $ET_0/RC$  e  $DI_0/RC$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10).

Aos 180 DAP, é possível notar uma diferença mais acentuada (20% menor) na taxa de absorção de energia ( $ABS/RC$ ), no entanto, observam-se



baixas taxas de dissipação de energia ( $DI_0/RC$ ) (26%). Diferenças significativas em relação ao controle em  $ET_0/TR_0$  e  $ET_0/RC$  (10 e 27,5%) foram observadas aos 240 DAP, indicando queda no transporte de elétrons. Após um ano, aos 510 DAP, nota-se que a maioria dos parâmetros apresentou valores intermediários para o fluxo de energia, exceto para os parâmetros  $TR_0/ABS$  e  $TR_0/RC$ , os quais foram menores.

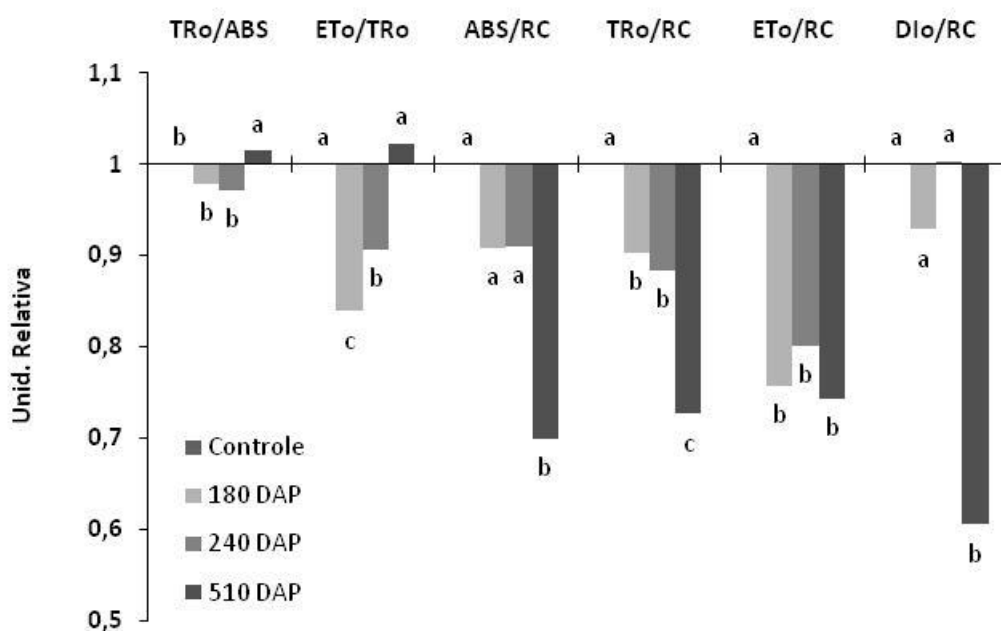
Aos 180 DAP houve uma diminuição na eficiência das reações de oxidorredução do FSI ( $\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})$ ). Mesmo tendo apresentado maiores valores para  $RC/ABS$ , aos 240 DAP, houve também diminuição na eficiência das reações fotoquímicas,  $\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$ , na eficiência das reações após a redução de  $Q_A^-$ ,  $\psi_0/(1-\psi_0)$ , e na eficiência das reações de oxidorredução do FSI  $\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})$  em cerca de 18, 26 e 28,5%, respectivamente, fato que produziu menores índices de desempenho (32% para o  $PI_{abs}$  e 46% para o  $PI_{total}$ ) (Figura 11).



**Figura 11:** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em componentes ( $RC/ABS$ ,  $(\phi_{P0}/(1-\phi_{P0}))$ ,  $(\psi_0/(1-\psi_0))$ ,  $(\delta_{R0}/(1-\delta_{R0}))$ ) e índices de performance de uma amostra ( $PI_{ABS}$  e  $PI_{TOTAL}$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey (n=10).

O rendimento quântico máximo do FSII ( $TR_0/ABS$ ), aos 150 DAP nas plantas da região do litoral, mostrou-se como o único parâmetro

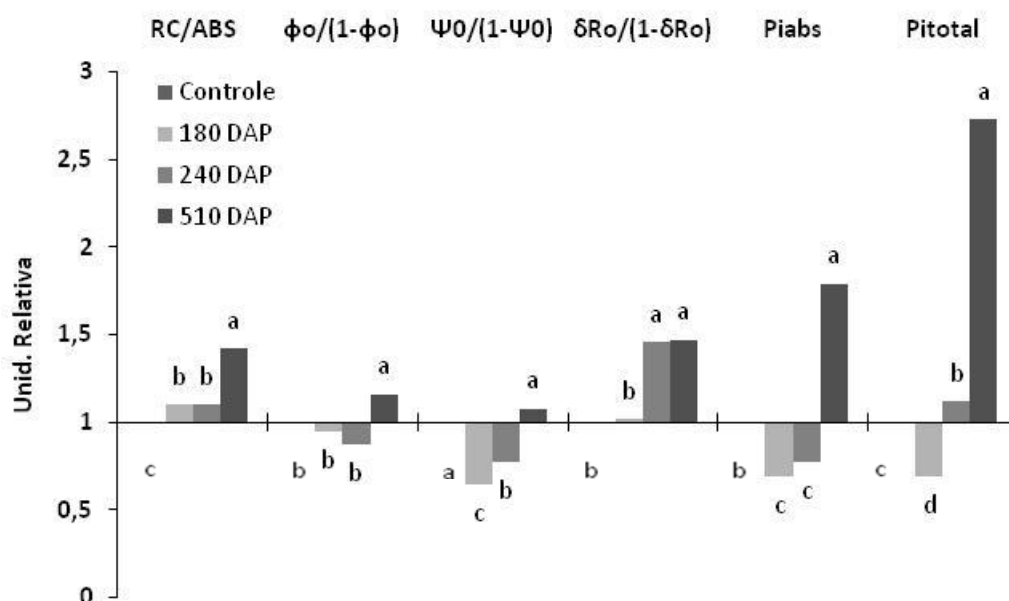
estatisticamente menor. Este também foi menor aos 180 DAP, o qual foi acompanhado de menores valores para  $ET_0/TR_0$  e  $ET_0/RC$  (26 e 24% respectivamente). Após um ano, aos 510 DAP, observam-se maiores valores para as razões de fluxo ou de rendimento,  $TR_0/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ , mesmo com as razões de fluxo específico,  $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$  e  $ET_0/RC$ , sendo em 30, 28 e 25% menores que o controle. A dissipação de energia,  $DI_0/RC$ , também foi significativamente menor (40%) (Figura 12).



**Figura 12:** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em razões de fluxo ou de rendimento ( $TR_0/ABS$  e  $ET_0/TR_0$ ) e razões de fluxo específico ( $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$ ,  $ET_0/RC$  e  $DI_0/RC$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey ( $n=10$ ).

Uma menor densidade de centros de reação ativos ( $RC/ABS$ ) e menor eficiência das reações de oxidorredução do FSI ( $(\delta_{R0}/(1-\delta_{R0}))$ ) foram observadas aos 150 DAP. Aos 180 DAP, verifica-se uma queda acentuada de 35% na eficiência das reações após a redução de  $Q_A^-$ ,  $\psi_0/(1-\psi_0)$ , além de menores eficiência nas reações fotoquímicas,  $\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$ , e eficiência das reações de oxidorredução do FSI,  $\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})$ , fato que contribuiu para um menor índice de

desempenho total,  $PI_{total}$  (30%). Após um ano, aos 510 DAP, como a densidade de centros de reação ativos (RC/ABS – 42%) e a eficiência das reações de oxidorredução do FSI ( $\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$  – 20%) foram maiores, estas plantas obtiveram maiores índices de desempenho (179% para  $PI_{abs}$  e 274% para  $PI_{total}$ ) (Figura 13).



**Figura 13:** Parâmetros da fluorescência OJIP deduzidos pelo teste JIP expressos em componentes (RC/ABS,  $(\phi_{Po}/(1-\phi_{Po}))$ ,  $(\psi_o/(1-\psi_o))$ ,  $(\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro}))$ ) e índices de performance de uma amostra ( $PI_{ABS}$  e  $PI_{TOTAL}$ ) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150, 180, 240 e 510 DAP, tendo como controle o 150 DAP (eixo horizontal). As letras iguais para um mesmo parâmetro, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey ( $n=10$ ).

A densidade de centros de reação ativos do FSII (RC/ABS) e o rendimento quântico máximo do FSII ( $TR_o/ABS = F_V/F_M$ ) aumentaram nas plantas cultivadas na região do litoral (Figuras 12 e 13), resultando em uma maior ativação dos RCs. Resultados semelhante foram observados por Souza et al. (2004) com feijão caupi (*Vigna unguiculata*) em que o rendimento quântico potencial ( $TR_o/ABS$ ) reduz-se em resposta ao estresse hídrico. Ao analisarem condições de estresses (salino, osmótico e metais pesados) em *Brassica juncea*, Yusuf et al. (2010) sugerem que reduções nos valores de RC/ABS acompanhados por reduções em  $TR_o/ABS$  são reflexos da inativação

de parte dos RCs. As plantas da região do interior cultivadas em condições mais favoráveis (solo argiloso e com mais disponibilidade de nutrientes - Tabela 1 e 2) quando comparadas às condições das plantas da região do litoral, mostraram-se menos adaptadas às eventuais mudanças sazonais (Figura 1) demonstrando menor densidade de RCs ativos devido a uma queda de  $TR_0/ABS$ . Resultados semelhantes aos apresentados pelas plantas cultivadas na região do interior no presente trabalho foram obtidos por Jiang et al. (2009). Os autores analisaram as ações antagônicas do boro contra os efeitos inibitórios da toxicidade por alumínio e também observaram reduções no rendimento quântico máximo do FSII ( $TR_0/ABS$ ) seguidos de reduções do índice de desempenho ( $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$ ) quando as plantas estavam submetidas às condições de estresse por alumínio. Em relação à fotossíntese, também observaram reduções na assimilação de  $CO_2$  ( $A$ ) e aumento nas taxas de concentração intercelular de carbono ( $C_i$ ), o mesmo foi obtido pelas plantas cultivadas na região do interior.

Ainda sobre os estudos de Jiang et al. (2009), destacam-se um aumento da fluorescência mínima ( $F_0$ ), da banda K e das fluorescências variáveis nos passos J ( $V_J$ ) e I ( $V_I$ ). Semelhantemente, as plantas da região do interior, neste trabalho, também tiveram maior fluorescência mínima ( $F_0$ ) (dados não mostrados).

Sob várias condições de estresse, mais um ponto aparece na fluorescência transiente, o ponto K, a  $\sim 0,3$  ms, o qual é indicativo de obstrução do lado doador do FSII (TÓTH, 2006). No entanto, a banda K não foi observada em nenhuma das medidas realizadas neste trabalho com as plantas de *J. curcas* L.

A probabilidade de um elétron avançar de  $Q_A^-$  e entrar na cadeia transportadora ( $ET_0/TR_0$ ) é considerada por Force et al. (2003) como um dos parâmetros derivados do teste JIP mais adequados para a identificação de fotoinibição do FSII. Em ambas as regiões o  $ET_0/TR_0$  apresentou uma queda, sendo mais acentuada aos 240 DAP (agosto/2010) no interior e aos 180 DAP (junho/2010) no litoral (Figuras 10 e 12), podendo-se deduzir que ocorreu fotoinibição do FSII pela menor probabilidade de seus elétrons entrarem na cadeia transportadora de elétrons. Durante estes períodos nota-se a ocorrência de baixos índices pluviométricos e também temperaturas menores; no interior,

as plantas já estavam submetidas a uma maior exposição a condições de baixa precipitação, já as plantas do litoral, o período representa baixa precipitação.

O transporte de elétrons por centro de reação ativos do FS II ( $ET_0/RC$ ) indica a taxa de reoxidação de  $Q_A$  reduzida, refletindo apenas a atividade dos centros de reação ativos. O  $ET_0/RC$  teve comportamento similar ao do parâmetro  $ET_0/TR_0$  aos 240 DAP no interior e aos 180 DAP no litoral. Os decréscimos apresentados pelos dois parâmetros implicam em menores índices de desempenho (Figura 12 e 14).

O índice de desempenho da amostra (PI) é considerado um indicador de 'vitalidade' da planta (MEHTA et al., 2010) e vem sendo muito usado e discutido nas investigações de estresses bióticos e abióticos (STRASSER et al., 2010). Os autores consideram dois índices de desempenho potencial: um Índice de Desempenho Parcial ( $PI_{abs}$ ), da conservação de energia absorvida pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons do inter-sistema; e um Índice de Desempenho Total ( $PI_{total}$ ), da conservação da energia absorvida pelo FSII até a redução dos aceptores finais do FSI.

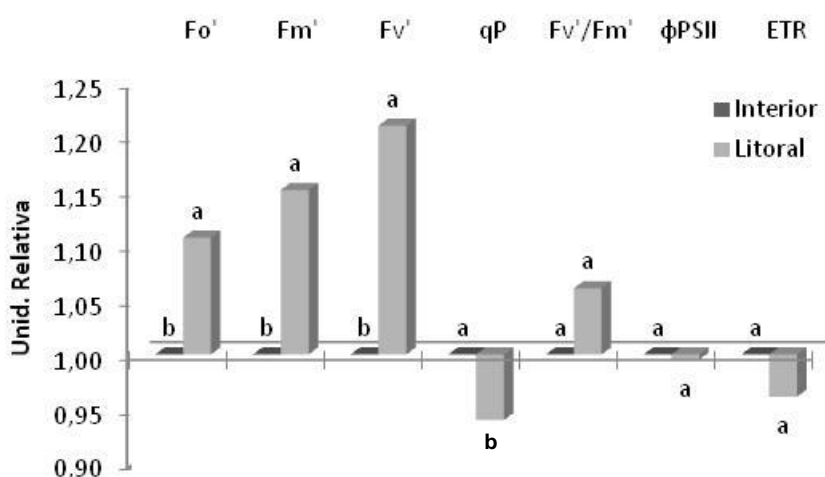
Quando se compararam os parâmetros do teste JIP das plantas cultivadas nas duas distintas regiões observaram-se maiores diferenças para os índices de desempenho. O  $PI_{total}$  é o parâmetro considerado como o mais sensível do teste JIP por evidenciar o desempenho das reações fotoquímicas em toda a extensão da cadeia transportadora de elétrons (STRASSER et al., 2007; ZUBEK et al., 2009). As plantas da região do litoral, aos 180 DAP, apresentaram menores índices de desempenho fotoquímico com diferença percentual de 207% e 355% para o  $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$ , respectivamente. Aos 240 DAP não se observou diferença entre estes parâmetros, e aos 510 DAP, esta diferença foi de 190% e 182%, porém sendo maiores nas plantas cultivadas na região do litoral, portanto mostrando-se mais eficientes nesta região (Figura 11 e 13).

### 3.5. FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A COM PULSO MODULADO

Na figura 14 são apresentados os resultados obtidos com as folhas das plantas do pinhão manso à luz, usando um fluorômetro modulado. As plantas cultivadas na região do interior apresentaram as menores taxas para

fluorescência mínima ou inicial ( $F_0'$ ) e fluorescência máxima ( $F_M'$ ) em estado adaptado a luz. A fluorescência mínima é a condição em que a  $Q_A$  encontra-se totalmente oxidada com todos os processos de extinção fotoquímicos ao máximo, enquanto que a fluorescência máxima representa a condição contrária (TÓTH, 2006). A relação entre as fluorescências mínima e máxima adaptadas à luz e a fluorescência mínima adaptada ao escuro ( $(F_M' - F_0) / (F_M' - F_0')$ ) resulta no coeficiente de extinção fotoquímico ou *quenching* fotoquímico (qP), o qual denota a proporção de éxcitons capturados e convertidos à energia química nos RC do FSII e seu valor depende da presença de  $Q_A^+$  (KRAUSE ; WEIS, 1991). Portanto, as plantas cultivadas na região do interior com menores  $F_0'$  e  $F_M'$ , conseqüentemente apresentaram maiores *quenching* fotoquímico (qP), demonstrando melhor conversão de energia química aos 150 DAP.

Os dados da fluorescência transiente, aos 150 DAP, confirmam a melhor conversão de energia química através do maior índice de desempenho total (202%) apresentado pelas plantas da região do interior, o qual foi devido a maiores valores da densidade de centros de reação ativos (RC/ABS), na eficiência das reações fotoquímicas,  $\phi_{PO}/(1-\phi_{PO})$  e na eficiência das reações de oxidorredução do FSI  $\delta_{RO}/(1-\delta_{RO})$ .



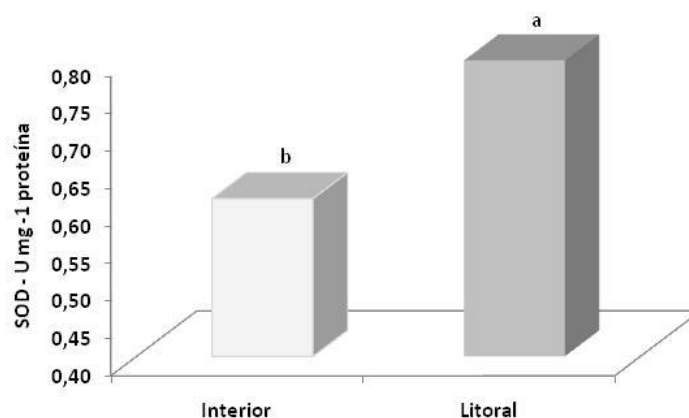
**Figura 14:** Parâmetros de emissão da fluorescência modulada da clorofila *a* em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 150 DAP, tendo como controle a região do interior (eixo horizontal). As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (n=10).

Harrison et al. (1989) e Genty et al. (1990) revelam que ETR mostra a correspondência das taxas fotoquímicas do FSII e do fotossistema FSI. Assim, a ausência de diferença estatística para este parâmetro indica que há igual correspondência entre os fotossistemas das plantas de ambas as regiões. Tal correspondência pode ser acentuada com a também igualdade entre os parâmetros de eficiência quântica fotoquímica efetiva em estado adaptado a luz ( $F_V'/F_M'$ ) e taxas no rendimento quântico efetivo real ( $\phi$ PSII).

### 3.6. ATIVIDADE ESPECÍFICA DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Neste trabalho plantas de *Jatropha curcas* L. no mesmo estágio de desenvolvimento e sob iguais condições de manejo, apresentaram diferentes respostas na atividade fotossintética e principalmente no desempenho fotoquímico permitindo inferir que o estresse verificado deve-se ao tipo de ambiente em que as plantas estavam submetidas.

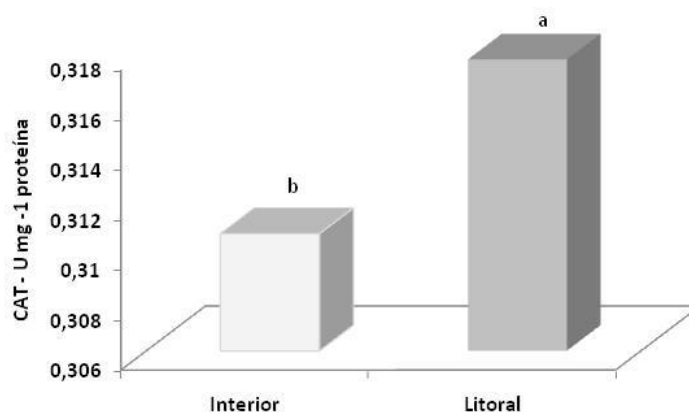
A Figura 15 mostra os resultados obtidos nas análises da atividade enzimática realizada nas mesmas folhas onde foram medidas as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*. Verifica-se que houve maior atividade específica da enzima dismutase do superóxido (SOD) (cerca de 23%) nas plantas cultivadas na região do litoral.



**Figura 15:** Atividade específica da superóxido dismutase (SOD) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do corante azul de nitro-tetrazólio. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em geral, o aumento da atividade da SOD leva a uma redução dos radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais danificam as membranas, causando prejuízos nas taxas fotossintéticas (CARDOSO, 2009). Tal prejuízo foi observado nas plantas cultivadas na região do interior, que apresentaram menores taxas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (Figura 5A).

O aumento da atividade da SOD foi acompanhado por um aumento da atividade da catalase (CAT) (Figura 16), a qual é regulada pelos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (POLIDOROS; ACANDALIOS, 1999). O fato do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzido pela SOD servir como substrato para outras enzimas, como exemplo CAT e peroxidase do ascorbato (APX), pode explicar a relação do aumento entre SOD e CAT nas plantas da região do litoral.



**Figura 16:** Atividade específica da catalase (CAT) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à oxidação de 1  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ . As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

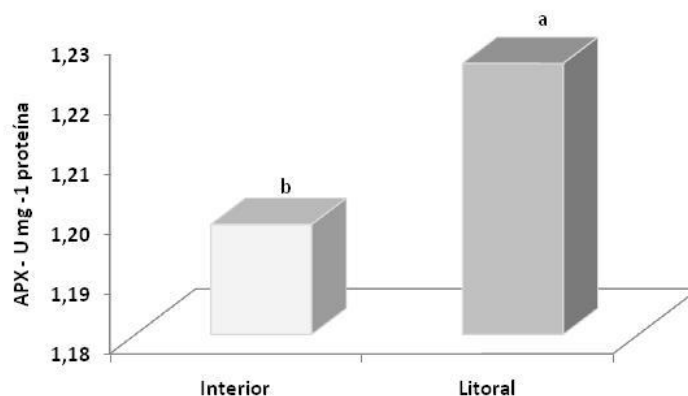
A análise da atividade da APX confirma esta relação (Figura 17). Resultados com aumento na atividade da SOD, CAT e APX após um período de estresse foi observado no trabalho de Jiang; Zhang (2002), indicando que a desintoxicação das ERO se faz por uma ação conjunta de atividades enzimáticas.



De acordo com Cakmak; Horst (1991), o aumento na atividade de algumas enzimas, como a CAT e APX, indica que, em algumas plantas mantidas sob condições de estresse, o  $H_2O_2$  produzido está sendo consumido preferencialmente por ação de enzimas antioxidantes e não por processos oxidativos, como na peroxidação de lipídios. Esta afirmativa pode justificar a maior atividade enzimática encontrada nas plantas do litoral constatada neste trabalho.

A correlação entre o crescimento e a atividade enzimática foi observada em plantas de *Triticum aestivum* submetidas a condições de estresse por altas irradiâncias, nas quais houve diminuição do crescimento e aumento da atividade da CAT e APX (CHAOMEI; YANLIN, 1993).

No presente estudo também foi possível observar que as plantas cultivadas na região do litoral apresentaram menor crescimento (Figura 2 e 3) e maior atividade das enzimas antioxidantes, demonstrando se tratar de uma região com condições adversas ao desenvolvimento desta espécie. Segundo Foyer et al. (2001) a indução da atividade das enzimas antioxidantes se dá em resposta ao estresse oxidativo (excesso de ERO) ocorrido devido à presença de condições adversas, tais como salinidade, ventos constantes, baixa fertilidade e tipo de solo.



**Figura 17:** Atividade específica da peroxidase do ascorbato (APX) em plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região do interior de Itarana – ES e na região do litoral de Pontal do Ipiranga/Linhares – ES aos 510 DAP. U corresponde à oxidação de 1 mmol ASA min<sup>-1</sup>. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A presença constante de EROS pode causar sérios danos estruturais ao metabolismo das plantas e o sistema de defesa pode não ser capaz de eliminar tal dano, sendo assim, passa-se a notar decréscimos na atividade de enzimas antioxidantes. Lee et al. (2001) relataram diminuição na atividade enzimática (SOD, CAT e APX) após longos períodos de exposição ao estresse em plantas de arroz cultivadas com 150 mM de NaCl. Observaram também um aumento na atividade das enzimas SOD e APX até três dias de exposição ao sal e diminuição após este período.

O desenvolvimento das plantas cultivadas na região do litoral, região de condições estressantes (com baixa fertilidade do solo e disponibilidade de água), demonstra que a maior parte dos fotoassimilados produzidos pela atividade fotossintética foram preferencialmente encaminhados para a manutenção de metabolismo básico em detrimento ao crescimento. Como exemplo tem-se um maior investimento na produção de enzimas antioxidantes para a eliminação das EROS.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A análise geral dos resultados demonstra que as plantas de pinhão manso possuem estratégias adaptativas quando cultivadas em ambiente com condições adversas visto que apresentaram melhor índice de desempenho fotoquímico e melhor taxa fotossintética na região do litoral. Portanto, análises de fluorescência transiente, mesmo representando somente a etapa fotoquímica, podem ser utilizadas na aferição do desempenho fotossintético em geral.

Em contrapartida, as plantas cultivadas na região do interior apresentaram maior eficiência real do uso da água, contribuindo para um maior crescimento. Ao apresentarem menor atividade das enzimas antioxidantes demonstram menores estresses oxidativos e menor formação de ERO. De fato, as condições ambientais na região do interior, demonstraram ser mais favoráveis ao cultivo das plantas de pinhão manso em razão de maior disponibilidade de nutriente, regularidades de chuvas e temperaturas mais estáveis.

## 5. REFERÊNCIAS

ALVES J.M.A.; SILVA A.A.S.S.R.G.; LOPES G.N.; SMIDERLE O.J.; UCHÔA S.C.P. Pinhão-Manso: Uma Alternativa para Produção de Biodiesel na Agricultura Familiar da Amazônia Brasileira. **Agro@ambiente** On-line, vol.2, n. 1, 2008.

ANDRÉO-SOUZA Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA F. F. S.; RIEBEIRO-REIS R.C.; EVANGELISTA M. R. V.; CASTRO R. D.; DANTAS B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.83-92, 2010.

ARAGÃO D.V; FORTINI L.B; MULKEY S.S; ZARIN D.J; ARAUJO M.M; de CARVALHO C.J. Correlation but no causation between leaf nitrogen and maximum assimilation: the role of drought and reproduction in gas exchange in an understory tropical plant *Miconia ciliata* (Melastomataceae). **American Journal of Botany**, v. 92, n. 3, p. 456-461, 2005.

ARAÚJO S.C; DEMINICIS B.B. Fotoinibição da Fotossíntese, **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.

ARNON D. I. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**. v.24, n.1, p.1-15, 1949.

ARRUDA F. P.; BELTRÃO N. E. M; ANDRADE A. P; PEREIRA W. E, Cultivo de Pinhão-manso (*Jatropha curcas*) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, n. 8 n 1, p. 789-799, 2004.

ASADA K. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 601-639, 1999.

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, n. 403, p. 1607–1621, 2004.

BELTRÃO N. E. M. ; CARTAXO W.V., Considerações gerais sobre o pinhão-manso e a necessidade urgente de pesquisas, desenvolvimento e inovações

tecnológicas para esta planta nas condições brasileiras. **Anais do 3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**, Varginha/Lavras, n 3, 2006.

BRADFORD M. Rapid and quantitative method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anual Biochemistry**, n. 72, p. 284-252, 1976.

CAMPOSTRINI E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. 1997. Disponível em: <[http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO\\_pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO_pdf)>. Acesso em: 20 março 2008.

CARMAK I.; HORST, W.J. Effect of Al lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max* L.). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 834, p. 463-468, 1991.

CARDOSO R. M. F., **Respostas de *Jatropha curcas* L. ao déficit hídrico Caracterização bioquímica e ecofisiológica**. Lisboa: Instituto Superior de Agronômica/UTL, 2009.

CARVALHO A.P.F.; BUSTAMANTE M.M.C.; KOZOVITS A.R.; ASNER G.P. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, V.30, n.1, p.19-27, 2007.

CHEN Z.; HIGGINS J.D; HUI J.T.L; LI J.; FRANKLIN F.C.H; BERGER F. Retinoblastoma protein is essential for early meiotic events in *Arabidopsis*. **European Molecular Biology Organization Journal**. 30: 744–755, 2011.

CHAOMEI Z. ; YANLIN M. Radiation-induced changes in enzymes of wheat during seed germination and seedling growth. **Acta Agriculturae Nucleatae Sinica**. v 7, n 2, p.93–97, 1993.

CORTESÃO M. **Culturas tropicais: Plantas oleaginosas**. Lisboa: Clássica, p.231, 1956.

DaMATTA F. M. Ecophysiological constraint on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crop Research**, v.86, p.99-114, 2004.

DHINDSA R.S.; PLUMB-DHINDSA P.; THORPE T.A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid

peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. **Journal experimental Botany**. 32:93-101, 1981.

DRUMONT M.A.; SANTOS C.A.F.; OLIVEIRA V.R.; MARTINS J.C.; ANJOS J.B.; EVANGELISTA M.R.V. Desempenho agronômico de genótipos de pinhão manso no Semiárido pernambucano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n.1, p.44-47, fev. 2010.

ENDRES L. Daily and seasonal variation of water relationship in sugar apple (*Annona squamosa* L.) under different irrigation regimes at semi-arid Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 113, p. 149–154, 2007.

FOYER C.H.; PELLNY T.K.; LOCATO V.; GARA L. Interactions between carbon and nitrogen metabolism. In: LEA, P.J.; MOROT-GAUDRY, J-F. **Plant nitrogen**. Berlin- Springer: Verlag, p.237-254. 2001.

FORCE L.; CRITCHLEY C.; VAN RENSEN J.J.S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, v. 78, p.17-33, 2003.

GAMON J.A.; SERRANO L. ; SURFUS J.S. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. **Oecologia**, 112:492-501. 1997.

GENTY B.; BRIANTAIS J.M.; BAKER N. R. The relationship between photosystem II efficiency and quantum of yield photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.990, p.87-92. 1990.

GONÇALVES J.F.C.; SILVA C.E.; GUIMARÃES D.G.; BERNARDES R.S. Análise dos transientes da fluorescência da clorofila a de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. **Acta Amazonica**. v 40. n 1, p.89-98, 2010.

GONÇALVES V.D.; NIETSCHE S.; PEREIRA M.C.T.; SILVA S.O.; SANTOS T.M.; OLIVEIRA J.R.; FRANCO L.R.L.; RUGGIERO C. Avaliação dos cultivares de bananeira 'Prata-Anã', 'ThapMaeo' e 'Caipira' em diferentes sistemas de plantio no norte de minas gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.371-376, 2008.

HAN L.; RUNDQUIST E.D.C. Comparison of NIR/RED ratio and first derivative of reflectance in estimating algal-chlorophyll concentration: A case study in a turbid reservoir. **Remote Sensing of Environment**. v.62. pp. 253-261. 2009.

HARRISON D.A.; GEYER P.K.; SPANA C.; CORCES V.G. The relationship between CO<sub>2</sub> assimilation and electron transport in leaves. **Photosynthesis Research**. v.25, p.213-224. 1989.

HELLER J. Physic nut *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.1. Gatersleben / Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. **International Plant Genetic Resources Institute**. 60p. 1996.

HURTADO S.M.C.; RESENDE A.V.; SILVA C.A.; CORAZZA E.J.; SHIRATSUCHI L.S. Clorofilômetro no ajuste da adubação nitrogenada em cobertura para o milho de alta produtividade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, 2011.

JIANG H.X.; TANG N.; ZHENG J.G. Antagonistic actions of boron against inhibitory effects of aluminum toxicity on growth, CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of *Citrus grandis* seedlings. **Bio Med Central Plant Biology**, 9:102, 2009.

JIANG M. ; ZHANG J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, 53 (379), p.2401-2410, 2002.

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

KONRAD M.L.F.; SILVA J.A.B.; FURLANE P.R.; MACHADO E.C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Revista de Ciências Agrônômicas**. v 64 n 3, p.339-347, 2005.

KÖPPEN climate classification. Disponível em < [http://en.wikipedia.org/wiki/K%C3%B6ppen\\_climate\\_classification](http://en.wikipedia.org/wiki/K%C3%B6ppen_climate_classification) > Acesso em: 03 agosto 2010.

LAL S.B.; MEHERA B.; CHANDRA R.; LARKIN A. Performance evaluation of *Jatropha curcas* in different districts of Uttar Pradesh. **New Agriculturist**, Suffolk, v.15, n.1/2, p.141-144, 2004.

LAVIOLA B. G.; COSTA R. D.; COSTA J. Z.; TRENHAGO E. D.; OLIVEIRA, F. S.; ROSADO T. B.; ALVES A. A.; MARANA J. Crescimento, florescimento e produção de pinhão-mansão no cerrado. In: **Anais...** II Congresso Brasileiro de Pesquisas de Pinhão-Mansão. Brasília: Embrapa, 2011.

LEE D.H.; KIM Y.S.; LEE C.B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Plant Physiology**, v. 158, p. 737–745, 2001.

LICHTENTHALER H.K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**. 148:331-382, 1987.

LIMA M.G.S.; LOPES N.F.; MORAES D.M.; ABREU C.M. Qualidade fisiológica de sementes de arroz ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.54-61, 2005.

LÜTTGE U. Physiological ecology of tropical plants. **Springer**. 1997.

MACHADO R.A.F.; DURÃES F.M.; MAGALHÃES P.C.; CANTÃO F.R.O. Análise de Fluorescência da Clorofila em Linhagens de Milho Contrastantes para Tolerância à Seca Submetidas a dois Níveis de Nitrogênio. **XXV Congresso de Milho e Sorgo**, Cuiabá, 2004.

MACHADO E. C.; SCHMIDT P. T.; MEDINA C. L.; RIBEIRO R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, p. 1161-1170, v. 40, n. 12, 2005.

MACHADO E.C.; MEDINA C.L.; GOMES M.M.A.; HABERMANN G. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira 'Valência'. **Scientia Agricola**, v.59, p.53-58, 2005.

MACHADO FILHO J.A.; CAMPOSTRINI E.; YAMANISHI O.K.; FAGUNDES G.R. Variação sazonal das trocas gasosas em folhas de mamoeiro cultivado em condições de campo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n.2, p. 185-196, 2006.

MALLICK N.; MOHN F.H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v.157, n.2, p.183-193, 2000.



MARENCO R.A.; NEVES T.S.; CAMARGO M.A.B.; COSTA G.F.; RODRIGUES J.C. Fotoinibição dinâmica da fotossíntese em árvores de dossel da Amazônia Central. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 150-152, 2007.

MARENCO R.A. Costa G.F. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapaguianensis*). **Acta Amazonica**, v.37, p.229-234, 2007.

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

MEHTA P.; JAJOO A.; MATHUR S.; BHARTI S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 16-20, 2010.

MIRANDA E.J.; VOURLITIS G.L.; PRIANTE FILHO N.; PRIANTE P.C.; CAMPELO JR J.H.; SULI G.S.; FRITZEN C. L.; LOBO F. A.; SHIRAIWA S. Seasonal variation in the leaf gas exchange of tropical forest trees in the rain forest–savanna transition of the southern Amazon Basin. **Journal of Tropical Ecology**, v. 21, p. 451-460, 2005.

MORAIS R.M.; FURLAN C.M.; MEIRELLES S.T.; ALVES D.Y.; SANTOS C.; SOUZA S.R.; VIOLA S. R. A. S.; REZENDE F.M. BARBOSA J. M.; LAZARETI R. Avaliação da sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao ozônio. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.46, n.9, p.971-978, set. 2011.

NERY A. R.; RODRIGUES L. N.; SILVA M. B. R. DA; FERNANDES P.D.; CHAVES L. H. G.; DANTAS NETO J.; GHEYI H. R. Crescimento do pinhão-mansão irrigado com águas salinas em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, p.551-558, 2009.

NISHIYAMA, S.; NAGATA T.; SATO S.; KATO D.; NAGAYAMA T.; KUSAKABE N.; MATSUNAGA N.; NAOI T.; SUGITANI K.; TAMURA M. The Distance to the Galactic Center Derived from Infrared Photometry of Bulge Red Clump Stars. **The Astrophysical Journal**, 647:1093-1098, 2006.

OLIVELLA F. A.; AGAREZ F. V.; ANDRADE F. N. 2005. Estudo fitossociológico de uma área fragmentada em Mata Atlântica de Tabuleiros, Sooretama, ES. VII

Congresso de Ecologia do Brasil - avanços nos estudos de ecossistemas terrestres, marinhos e de águas continentais. **Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil**, 1, 1, ISBN: Português, Meio digital, 2005.

OUKARROUM A.; SCHANSKER, G.; STRASSER R.J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermo tolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 137, p. 188-199, 2009.

PASSOS C.D.; PASSOS E.E.M.; PRADO C.H.B.A. Comportamento sazonal do potencial hídrico e das trocas gasosas de quatro variedades de coqueiro-anão. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 248-254, 2005.

POLIDOROS A.N.; SCANDALIOS J. G. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). **Plant Physiology**. 106, p.112-120, 1999.

SANTOS C.M. **Fenologia e capacidade fotossintética do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em diferentes épocas do ano no Estado de Alagoas**. Alagoas: UFAL, 2008.

SAIMANEERAT A.; SUPOMPATH P.; KEERATINIJAKAL V. Preliminary yield trial of physicnut lines. In: KASETSART UNIVERSITY ANNUALCONFERENCE, 45., 2007, Kasetsart. **Proceedings Bangkok**, Thailand: Kasetsart University, p.423-430, 2007.

SATURNINO H.M.; PACHECO D.D., GONÇALVES N.P. Produção de oleaginosas para o biodiesel. **Informe Agropecuário**, n. 26, p. 44-74, 2005.

SCHANSKER G.; SRIVASTAVA A.; GOVINDJEE; STRASSER, R.J. Characterization of the 820-nm transmission signal paralleling the chlorophyll a fluorescence rise (OJIP) in pea leaves. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 785–796, 2003.

SCHANSKER G.; TÒTH S.Z.; STRASSER R.J. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1706, p. 250–261, 2005.

SCHWANZ P.; POLLE A. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO<sub>2</sub> concentrations. **Journal of Experimental Botany**. Oxford, v.52, n.354, p.133-143, 2001.

SMIT M.F.; VAN HEERDEN, P.D.R; PIENAAR J.J.; WEISSFLOG L.; STRASSER R.J.; KRÜGER G.H.J. Effect of trifluoroacetate, a persistent degradation product of fluorinated hydrocarbons, on *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 623-634, 2009.

SOUZA R.P.; MACHADO E.C.; SILVA J.A.B.; LAGO A.M.M.A.; SILVEIRA J.A.G. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and Recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, p. 45-56, 2004.

STRASSER R.J.; SRIVASTA A.; TSIMILLI-MICHAEL M. Analysis of the fluorescence transient. In: PAPAGEORGIU, G.; GOVINDJEE (Eds.). Chlorophyll fluorescence: A Signature of Photosynthesis, **Advances in Photosynthesis and Respiration Series**, v. 19, p. 321–362, 2004.

STRASSER R.J.; TSIMILLI-MICHAEL M.; DANGRE D.; RAI M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with *Piriformospora indica*. In: VARMA, A.; OELMÜLER, R. (Eds.). Advanced Techniques in Soil Microbiology. **Soil Biology**, p. 319–341, 2007.

STRASSER R.J.; TSIMILLI-MICHAEL M.; QIANG S.; GOLTSEV V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1313–1326, 2010.

STRASSER R.J.; STRASSER. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis P (ed) **Photosynthesis: from Light to Biosphere**. R. J., *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, The Netherlands, p. 977– 980. 1995.

TATAGIBA S. D.; PEZZOPANE J. E. M. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas em dois clones de *eucalyptus*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, n. 10, 2007.

TÒTH S.Z. **Analysis and Application of the Fast Chl a Fluorescence (OJIP) Transient complemented with simultaneous 820 nm transmission measurements**. Tese de Doutorado, Universidade de Genebra, Suíça. 170p. 2006.

TÒTH S.Z.; SCHANSKER G.; STRASSER R.J. A non-invasive assay of the plastoquinone pool redox state based on the OJIP-transient. **Photosynthesis Research**, v. 93, p. 193-2003, 2007.

TSIMILI-MICHAEL M.; STRASSER R.J. Applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants. **Mycorrhiza: State of the art, genetics and molecular biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**. 3th edition. Springer, p. 679-703. 2008.

YU M.; XIE Y.; ZHANG X. Quantification of Intrinsic Water Use Efficiency along a Moisture Gradient in Northeastern China. **Journal of Environmental Quality**, v 34, 2005.

YUSUF M.A.; KUMAR D.; RAJWANSHI R.; STRASSER R.J.; TSIMILLI-MICHAEL M.; GOVINDJEE SARIN N.B. Overexpression of  $\gamma$ -tocopherol methyl transferase gene in *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428-1438, 2010.

ZANANDREA L.; NASSI F.L.; TURCHETTO A.C.; BRAGA E. J. B.; PETERS J.A.; BACARIN M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.

ZUBEK S.; TURNAU K.; TSIMILLI-MICHAEL M.; STRASSER R.J. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. **Mycorrhiza**, v. 19, p. 113–123, 2009.